

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE PATHOLOGIE EXOTIQUE

ET DE SES FILIALES

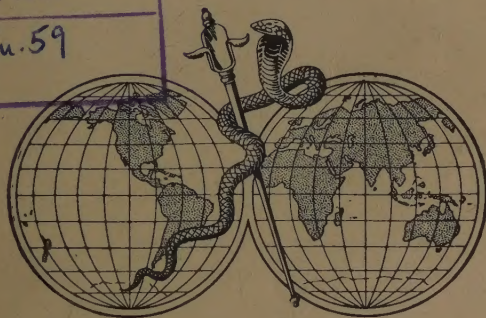
COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY

SECRÉTAIRES GÉNÉRAUX : R. DESCHIENS ET M. RIOU

12 JUL 1957

SERIAL
SEPARATE

Eu.59



SIÈGE DE LA SOCIÉTÉ : INSTITUT PASTEUR, PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain
PARIS

SOMMAIRE DU NUMÉRO 2

ORDRE DU JOUR DES SÉANCES	171
NECROLOGIE	173
A PROPOS DU PROCES-VERBAL	182
CORRESPONDANCE	183
COMMUNICATIONS	184
PÉREZ ALVA (S.). — La Maladie de Carrion. Essai d'infection expérimentale de la souris blanche par voie intranasale par <i>Bartonella bacilliformis</i>	184
PÉREZ ALVA (S.) et GIUNINI (J.). — La Maladie de Carrion. Étude morphologique de <i>B. bacilliformis</i> au microscope électronique	188
GIROUD (J.) et COLAS-BELGOUR (J.). — Infections néo-rickettsiennes de l'homme après piqûre par <i>Dermacentor marginatus</i>	194
CECCALDI (J.), LEPISSIER (H.) et MERVEILLE (P.). — Premier cas de rage observé en A. E. F. chez un chien vacciné préventivement	197
VALETTE (A.). — Antihistaminiques et réactions lépreuses (Discussion : M. RIQU).	200
FLOCH (H.). — Lépremine ultrasonnée et hémagglutination	203
ROGER (F.) et ROGER (A.). — Premiers résultats concernant la congélation de <i>Toxoplasma gondii</i>	208
FLOCH (H.). — Importation du paludisme et traitement imposé à l'entrée des immigrants.	212
PICK (F.). — Sur un nouveau milieu au sang permettant la transmission rapide du <i>Trypanosoma cruzi</i> (formes sanguines et métacycliques) en formes leishmaniennes	217
PICK (F.). — Sur un dispositif d'alimentation de Réduvidés hématophages pour la recherche indirecte de formes métacycliques du <i>T. cruzi</i>	220
DESTOMBES (P.). — Les Sarcosporidioses au Vietnam.	221
DESCHIENS (R.), LEVADITI (J. C.) et LAMY (L.). — Sur quelques aspects morphologiques de Sarcosporidies de divers mammifères	225
DESCHIENS (R.). — Sur la perpétuation des élevages des mollusques vecteurs des bilharzioses à l'obscurité.	229
PICK (F.). — Sur des conditions extérieures de la cristallisation réduvidique de l'hémoglobine ; la prise du repas sanguin des réduvidés hématophages sur des volontaires alités et sur des animaux curarisés	234
PICK (F.). — La répercussion du myélome à gamma-globulines sur les cristallisations réduvidiques de l'hémoglobine de malades	237
MEMOIRES	238
GIROUD (P.), BLANC (F.), DAHL (C.) et BOUAT (J.). — A propos d'un cas d'affection néo-rickettsienne à symptomatologie de fièvre ondulante	238
PÉREZ ALVA (S.), ROGER (F.) et ROGER (A.). — La Maladie de Carrion. Résistance de <i>B. bacilliformis</i> au processus de lyophilisation	243
CIACCIO (G.). — Comportement du lapin inoculé avec le virus Columbia SK.	249
DARASSE (H.), LE MINOR (L.), PIÉCHAUD (D.) et NICOLLE (P.). — Les entérobactéries pathogènes à Dakar.	257
PANTHIER (R.), CARTEAUD (A. J. P.) et HUSSON (R. A.). — Recherche d'une méthode précise de titrage des anticorps par test de séroprotection. II. Étude de la variation systématique du rapport virus anticorps	282
SCHNEIDER (J.), LANGUILLON (J.) et DELAS (A.). — Association Chloroquine-Pyriméthamine dans la chimio prophylaxie du paludisme	295
LACAN (A.). — Indices paludométriques et immunité palustre chez l'enfant africain.	302
BAILLENGER (J.). — Fréquence des localisations hydatiques chez l'homme et le bétail	308
HAUSSY (R. D'), PEISTER (R.), RIT (J.-M.) et BRIEYEAU (G.). — Note sur les relations de l'onchocercose et de la syphilis au Soudan	314
LINHARD (J.), MAZAUD (R.) et MOISSINAC (J.). — État hématologique de l'Africaine dakaroise pendant la grossesse	321
ERRATUM	336
SOCIÉTÉ MÉDICALE DE L'A. O. F.	337

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE PATHOLOGIE EXOTIQUE ET DE SES FILIALES

SÉANCES DES 13 MARS ET 10 AVRIL 1957

ORDRE DU JOUR DES SÉANCES

SÉANCE DU 13 MARS 1957

PRÉSIDENTE DE M. G. GIRARD

BRUMPT (L. C.), LACOURBE et ABIVEN. Un cas d'hémoglobi-
nose pathologique chez une Guadeloupéenne doublement hétéro-
zygote SC. — CECALDI (J.), LEPISSIER (H.) et MERVEILLE (P.).
Premier cas de rage observé en A. E. F. chez un chien vacciné
préventivement. — CIACCIO (G.). Comportement du lapin inoculé
avec le virus Columbia SK. — DARASSE (H.), LE MINOR (L.), PIÉ-
CHAUD (D.) et NICOLLE (P.). Les entérobactéries pathogènes à
Dakar. — FLOCH (H.). Lépromine ultrasonnée et hémagglutina-
tion. — GIROUD (P.), BLANC (F.), DAHL (C.) et BOULAT (J.). A pro-
pos d'un cas d'infection néo-rickettsienne à symptomatologie de
fièvre ondulante. — HAUSSY (R. D'), PFISTER (R.), RIT (J. M.) et
BRETEAU (G.). Note sur les relations entre l'onchocercose et la
syphilis au Soudan. — LINHARD (J.), MAZAUD (R.) et MOISSINAC (J.).
Etat hématologique de l'Africaine dakaroise pendant la grossesse. —
MOUCHET (J.), GARIOU (J.) et RIVOLA (E.). Observations sur la bio-
logie d'*Anopheles smithi*. — PICK (F.). Sur des conditions exté-
rieures de la cristallisation réduvidique : la prise du repas sanguin
des Réduvidés hématophages sur des volontaires aliés et sur des
animaux curarisés.

SÉANCE DU 10 AVRIL 1957

PRÉSIDENTE DE M. G. GIRARD

BAILLENGER (J.). Fréquence des localisations hydatiques chez l'homme et chez le bétail. — DESCHIENS (R.). Présentation d'un élevage, conservé pendant un an à l'obscurité, de *Bulinus truncatus*. Incidences épidémiologiques de ce fait biologique. — DESTOMBES (P.). Sur les Sarcosporidioses animales au Vietnam. — FLOCH (H.). Importation du paludisme et traitement imposé à l'entrée des immigrants. — GIROUD (P.) et COLAS-BELCOUR (J.). Infections néo-rickettsiennes de l'homme après piqure de *Derma-centor marginatus*. — LACAN (A.). Indice paludométrique chez l'enfant africain en zone d'hyper-endémicité (Immunité palustre et chimioprophylaxie). — LEVADITI (J. C.), LAMY (L.) et DESCHIENS (R.). Sur quelques aspects morphologiques de Sarcosporidies des mammifères. — PANTHIER (R.), CARTEAUD (J. P.) et HUSON (R. A.). Recherche d'une méthode précise de titrage des anticorps pour test de séroprotection. II. Etude de la variation systématique du rapport virus-anticorps. — PEREZ ALVA (S.), ROGER (F.) et ROGER (A.). Maladie de Carrion. Résistance de *Bartonella bacilliformis* au processus de lyophilisation. — PEREZ ALVA (S.). Maladie de Carrion. Etude expérimentale de *B. bacilliformis* par inoculation intranasale de la souris blanche. — PEREZ ALVA (S.) et GIUNTINI (J.). Maladie de Carrion. Etude morphologique de *B. bacilliformis* au microscope électronique. — PICK (F.). La répercussion du Myélome à gamma-globulines sur les cristallisations réduvidiques de l'hémoglobine de malades. — PICK (F.). Sur un dispositif d'alimentation de Réduvidés hématophages pour la recherche indirecte de formes métacycliques de *Trypanosoma cruzi*. — PICK (F.). Un nouveau milieu au sang permettant la transformation du *T. cruzi* (formes sanguines et métacycliques) en formes leishmaniennes. — ROGER (F.) et ROGER (A.). Premiers résultats concernant la congélation de *Toxoplasma gondii*. — SCHNEIDER (J.), LANGUILLON (J.) et DELAS (A.). Association chloroquine-pyriméthamine dans la chimioprophylaxie du paludisme. — VALETTE (A.). Antihistaminiques et réactions lépreuses.

NÉCROLOGIE

GEORGES BOUET

(1869-1957)

La mort du docteur Georges BOUET, survenue le 11 février à l'âge de 87 ans, affecte profondément la Société de Pathologie Exotique à laquelle il appartenait depuis 1908, année de sa fondation.

Sorti de l'Ecole de Bordeaux en 1896 comme médecin de 2^e classe des colonies, BOUET servira comme médecin militaire jusqu'en 1912, puis quittera l'armée comme médecin major de 1^{re} classe pour entrer dans l'Administration coloniale dont il était retraité depuis 1927 comme administrateur en chef honoraire. Sa carrière comporte donc deux étapes nettement tranchées.

Il fait d'abord campagne au Soudan où il participe aux colonnes contre Samory (1897-1899). Après un séjour de trois ans à Madagascar, il est affecté en stage à l'Institut Pasteur. Par une inclination naturelle et à l'exemple des premiers pasteuriens coloniaux, la parasitologie lui ouvre, sous l'impulsion de LAVERAN et MESNIL, de vastes horizons. Il procède en 1905 au laboratoire de MESNIL à une étude sur la culture de *Trypanosoma rotatorium* de la grenouille qui paraît dans les *Annales de l'Institut Pasteur*. C'est en A. O. F. qu'il va de 1906 à 1912 faire œuvre de pionnier au cours de deux missions effectuées soit seul, soit avec E. ROUBAUD, avec qui il restera lié par une indéfectible amitié.

De 1906 à 1908, son activité s'exerce en Côte-d'Ivoire et au Dahomey où il a pour mission de créer des centres vaccino-gènes pour endiguer la variole qui sévit gravement et en permanence au sein des populations indigènes ; il réalise parfaitement l'objectif qui lui a été assigné. Il a, durant huit mois, parcouru toute la Basse-Côte-d'Ivoire, examinant les différentes races de bovidés rencontrés, donnant l'assurance que la tuberculose est inconnue chez ces animaux ; il préconise la création de deux centres vaccino-gènes, l'un au chef-lieu, l'autre au-delà de la zone forestière dans le pays de Kong. Au cours de ses tournées de vaccine, BOUET procède à l'examen du sang des animaux domestiques et découvre que la plupart des animaux étiques sont infestés de trypanosomes parmi lesquels *Tr. dimorphon*, le plus répandu, *Tr. pecaui* et *Tr. cazal-boui*. Il récolte quatre espèces de glossines, *Gl. palpalis*, *Gl. pallicera*, *Gl. fusca* et *Gl. medicorum*. L'examen du sang des bœufs

importés du Sénégal à Abidjan lui révèle l'existence chez eux de la piroplasmose à *P. mutans* ; les tiques qu'il recueille sur ces bœufs sont en majorité des *Margaropus annulatus* et des *Amblyomma variegatum*. BOUET a jusqu'alors fait peu d'examen de sang chez l'homme en Basse-Côte-d'Ivoire où la maladie du sommeil était encore inconnue. C'est en Haute-Côte-d'Ivoire qu'il allait découvrir les premiers cas de trypanosomiase humaine. Au hasard de ses tournées, il a l'occasion de trouver chez les oiseaux et les reptiles des espèces nouvelles de parasites sanguicoles. Il décrit deux hématozoaires pigmentés, l'un chez le Naja de la Côte-d'Ivoire, *Plasmodium mesnili*, l'autre chez une tortue de terre de la Côte-d'Ivoire et du Dahomey, *Pl. roumei* ; puis des trypanosomes chez des vertébrés à sang froid : chez une tortue d'eau, *Tr. pontyi*, chez des serpents *Tr. clozeli*, chez des sauriens *Tr. martini*, *Tr. gallayi*, chez un poisson *Tr. toti*. Ces descriptions font l'objet de notes à la « Société de Biologie ».

C'est pendant cette première mission que BOUET réussit la transmission de *Tr. dimorphon* par *Gl. palpalis* que E. ROUBAUD réalisait de son côté à la même époque. Après la Côte-d'Ivoire, c'est le Dahomey qu'il traverse du nord au sud. Il y poursuit ses enquêtes sur les parasites du sang et les insectes vecteurs et rencontre pour la première fois *Gl. tachinoides*. Etudiant la piroplasmose bovine, BOUET obtient la transmission de la maladie à un jeune veau par des *Rhipicephalus simus* de seconde génération et parvient à ramener une génisse contaminée à l'Institut Pasteur de Paris.

Cette première mission avait préparé le terrain de la seconde à laquelle de 1909 à 1912 allait être associé E. ROUBAUD. Les recherches sur la biologie des glossines et la transmission des trypanosomiasés de l'ouest africain en constituaient l'objectif essentiel, sans être limitatif. Pour son exécution, la Mission renouvelle l'itinéraire déjà exploré par BOUET du sud au nord du Dahomey ; elle y installe un laboratoire temporaire au centre du pays, puis gagne le Niger qu'elle remonte par Niamey, Gao et Tombouctou pour rejoindre Bamako et Kayes, la Haute-Gambie et la Casamance ; c'est enfin le retour à Dakar d'où elle était partie trois ans auparavant. Dix milliers de kilomètres ont été parcourus et une documentation considérable a été rassemblée qui aboutira dix ans plus tard, parce que retardée du fait de la grande guerre, à la publication de la carte en couleurs à 1/4.000.000 donnant la répartition géographique des trypanosomiasés et de neuf espèces de glossines, ainsi que les principaux centres de peuplement des grands mammifères en A. O. F. dont l'existence intéresse au premier chef cette répartition. Vingt communications ou mémoires signés de BOUET ou de BOUET-ROUBAUD consacrent dans nos *Bulletins* l'importance de ces acquisitions.

Sa passion de naturaliste a incité BOUET à prospecter la faune parasitaire des régions qu'il traversait. Il rapporte une espèce nouvelle de punaise des lits répandue dans les villages de la Haute-Côte-d'Ivoire dont E. BRUMPT fait l'étude et qu'il lui dédie sous le nom de *Gimex boueti* dont, plus tard, ROUBAUD devait faire le genre *Leptocimex*; l'*Argas* des chauves-souris du Soudan, *A. boueti* (ROUBAUD et COLAS-BELCOUR), la mouche à larves suceuses de sang, parasite des Phacochères soudanais, *Cheromya boueti* (ROUBAUD) qui a permis de définir pour la première fois l'existence insoupçonnée dans les terriers d'animaux sauvages africains à peau nue d'un muscidé parasite étroitement apparenté à l'*Aucheromya* des habitations humaines.

La seconde étape de la carrière de G. BOUET nous intéresse moins directement. Administrateur des colonies, il est d'abord chargé en cette qualité de l'inspection mobile de l'hygiène en A. O. F. que lui confie le Gouverneur Général, son ami WILLIAM PONTY; puis c'est sa nomination comme chargé d'affaires et Consul de France au Libéria où ses fonctions administratives ne l'empêcheront pas d'exercer sa profession médicale et de satisfaire à ses préoccupations de naturaliste. Le Muséum, dont il fut correspondant, ensuite Membre associé, recevra de lui un grand nombre de vertébrés à sang froid ou à sang chaud. Son sujet de prédilection sera les Oiseaux; il rédigera un ouvrage fondamental sur la nature et la distribution géographique des Oiseaux de l'Afrique tropicale dont le premier volume a paru en 1955 à la *Faune de l'Union française* et qu'E. ROUBAUD présenta à l'une de nos séances tandis que le second est prêt à sortir des presses. Il a, d'autre part, réalisé, avec l'aide du Muséum, des campagnes successives de baguages destinées à marquer les jeunes cigognes pour connaître leurs migrations; de 1934 à 1953, 5.416 baguages ont été ainsi effectués; les captures ultérieures de quelques-unes de ces cigognes ont permis de préciser que, lors de leurs migrations d'hiver, ces oiseaux gagnent le Congo belge, l'Oubangui-Chari et l'Uganda. Pour ses travaux rassemblés dans un très beau livre où nos connaissances actuelles sur les cigognes sont exposées, BOUET a reçu à l'Académie des Sciences le Prix Savigny. Mais notre Collègue n'oublia jamais qu'il était médecin colonial et il en fit la preuve éclatante en diagnostiquant en 1926 le premier cas de fièvre jaune suivi de plusieurs autres au Libéria, territoire considéré jusque-là, peut-être à tort, écrivait-il, comme indemne d'endémie amarile. La relation de cette épidémie, il l'a donnée devant notre Société; sa lecture est édifiante car elle nous révèle comment il sut convaincre les réticences qui se firent jour chez les autorités de cette République noire à l'annonce d'un mal qu'on eût préféré ignorer. Les mesures imposées par BOUET qui fit

disparaître les innombrables gîtes à *Stegomya* à l'entour du foyer mirent fin à cet épisode. Ce que l'on sait moins, c'est que BOUET mit à profit le passage de BELLARDS, à cette époque en mission en Afrique, pour lui remettre le matériel nécessaire à ses premières recherches et l'engager à poursuivre à l'Institut Pasteur de Dakar les travaux qui devaient le conduire, avec J. LAIGRET, à la découverte du vaccin antiamarile. Son intervention auprès des autorités administrative et sanitaire de l'A. O. F. et de C. MATHIS fut, à cet égard, décisive.

G. BOUET garda jusqu'à ses derniers jours une spontanéité d'élan qui était un des traits de son comportement. Opiniâtre et enthousiaste, le regard pénétrant, gai et bon vivant, l'ironie au coin des lèvres, critique avisé, volontiers véhément, tel il apparaissait à ses collègues et amis. A l'Académie des Sciences coloniales qu'il présida en 1946, il jouissait d'une autorité incontestée. Nous pouvons peut-être regretter que sa carrière de pasteurien colonial ait été brève et que sa passion de naturaliste l'ait orienté dans une voie qui n'a que de lointains rapports avec nos préoccupations habituelles. S'il ne fréquentait plus depuis longtemps nos séances que très irrégulièrement, il n'en suivait pas moins leur activité par la lecture de ses *Bulletins*, notamment pour ce qui touchait aux trypanosomiasés. Il le prouva voici deux ans quand il vint souligner avec force les regrettables omissions commises par l'auteur d'un travail d'ensemble sur les trypanosomiasés en A. O. F.

Les missions de G. BOUET font date dans l'exploration scientifique de l'A. O. F. Accomplies dans des conditions difficiles et non exemptes de dangers (*) car certaines des régions explorées étaient à peine pacifiées, elles témoignent des qualités du défricheur, du pionnier qui a tracé et creusé un sillon que d'autres, après lui, auront approfondi. A ce titre, G. BOUET a droit à notre admiration et à notre gratitude. Il fut de ceux qui, dès sa création, animèrent par l'apport de travaux originaux et d'un intérêt majeur les séances de la Société de Pathologie Exotique et contribuèrent, dès ses débuts, à son prestige. Son souvenir restera vivant parmi nous.

J'adresse à Madame G. BOUET nos respectueuses condoléances en l'assurant de la part que notre Société prend à son grand deuil.

G. GIRARD.

(*) Dans son livre, *L'Œuvre des Pasteuriens en Afrique noire*, C. MATHIS a donné sur les Missions des détails particulièrement évocateurs. GEORGES BOUET, GEORGES BOUET et EMILE ROUBAUD (cf. p. 182-209).

ANDRÉ LAMOUREUX

(1876-1957)

Le Médecin Colonel ANDRÉ LAMOUREUX est mort le 7 février dans sa 81^e année. Il collabora assidûment à l'activité de notre Société dont il était membre depuis 1911.

Sorti de l'école de Bordeaux en 1901, ses affectations l'ont successivement conduit au Sénégal, à Mayotte, à Madagascar, à la Martinique, au Tonkin, en Inde Française. Durant la grande guerre, il servit sur les fronts de France et d'Orient. A Madagascar, à Mayotte, en Martinique, il eut l'occasion de faire d'utiles observations et de procéder à des recherches qu'il consigna dans plusieurs notes ou mémoires parus en majorité dans nos *Bulletins* et dans les *Ann. de Médecine et de Pharmacie coloniale*. Il signale la fréquence du parasitisme intestinal à la Grande Comore où il a constaté un cas mortel d'ascaridiose. Elève de MARCHOUX auprès de qui il s'initia aux divers aspects du problème de la lèpre, il montre comment à Madagascar la prophylaxie est réalisée dans les léproseries de la zone des hauts plateaux suivant la conception la plus humaine, et cela depuis la fin du siècle dernier. Il décrit une variété de lépride tégumentaire chez des Noirs, hypochromie qu'il sépare nettement du vitiligo, de la morphée et des taches achromiques classiques de la lèpre car, au point de vue clinique, cette fonte partielle du pigment cutané ne s'accompagne d'aucune réaction. Mais le travail *princeps* de LAMOUREUX concerne la fièvre récurrente à Madagascar dont il étudie 3 cas à Majunga. Signalée pour la première fois par THÉZÉ en 1910 sur un unique cas, la preuve restait à faire de la nature de cette spirochétose que l'on soupçonnait seulement, d'après des documents anciens, être imputable aux tiques. LAMOUREUX apporte sur ce point les arguments décisifs en inoculant le sang d'un malade à la souris qu'il trouve réceptive tandis que le lapin se montre réfractaire, et en découvrant la présence d'*Ornithodoros moubata* dans les cases d'une partie de la côte ouest de la grande île qui est précisément celle où sévit la maladie. A l'armée d'Orient en 1917, il étudie un foyer de paludisme autochtone à *Pl. vivax* dans une région assez isolée du sud de l'Albanie, celle du lac Presba où tout apport parasitaire exogène est exclu. Mais il conclut prudemment que, son observation étant faite en juillet, il serait possible de voir à la période estivo-automnale *Pl. falciparum* se substituer à *Pl. vivax*, comme c'était la règle dans le paludisme de Macédoine. Ayant quitté le secteur, il ne put poursuivre ces investigations.

Nous devons à LAMOUREUX un travail très documenté sur l'hygiène, disons plutôt le manque d'hygiène à la Martinique en 1921, et le besoin pressant de procéder à une organisation sanitaire sur les bases qu'il énonce. C'est à cette époque qu'avec HENRIC il signale 1 cas de fièvre jaune qui semble être le dernier enregistré dans cette île. Nous lui devons encore d'avoir conçu un modèle de moustiquaire de campagne utilisable par le soldat qui couche en plein air ou sous tente individuelle.

Le docteur LAMOUREUX a fréquenté nos séances autant que son état de santé et son relatif éloignement de la capitale le lui ont permis. Mais par les visites dont il voulait bien m'honorer à mon laboratoire au cours des dernières années alors qu'il éprouvait des difficultés croissantes à lire et entendre, j'ai pu me convaincre de l'intérêt qu'il ne cessait de porter à la marche de notre Société et à ses *Bulletins*.

Que Madame A. LAMOUREUX et ses enfants veuillent bien agréer, dans le deuil qui les frappe, l'expression de notre profonde sympathie.

G. GIRARD.

GUSTAVE BOUFFARD

(1872-1957).

Le Médecin Général G. BOUFFARD est mort le 21 mars, dans sa 85^e année, suivant de près dans la tombe son camarade et ami, G. BOUET. Comme lui, il était entré à la Société de Pathologie Exotique l'année même de sa fondation car il avait déjà à son actif d'importants travaux parus dans les *Ann. de l'Inst. Pasteur* et les *Ann. d'Hyg. et Méd. col.* Il allait ensuite réserver la primeur de ses publications à la jeune Société, marquant ainsi l'intérêt qu'il portait à son essor.

Originaire de Rochefort, où la vieille école, annexe du Service de Santé, a suscité tant de vocations maritimes et coloniales chez les étudiants en médecine de la région des Charentes, BOUFFARD est admis à l'Ecole de Bordeaux d'où il sort en 1895. Ayant opté pour les Colonies, il est conquis par l'Afrique après un premier séjour qu'il fait à Kayes en 1896, dans cet ancien territoire du Haut-Sénégal et Niger rattaché plus tard au Soudan. Exception faite de deux années passées à Madagascar, au demeurant sans enthousiasme, c'est en Afrique noire que BOUFFARD accomplira toute sa carrière outre-mer, du grade d'aide-major à celui de Médecin Général, Directeur des Services sanitaires de l'A. E. F. Il fut

entre temps professeur à l'Ecole d'application de Marseille qu'il quitta le 2 août 1914 à la tête d'une ambulance divisionnaire sur le front français pour être bientôt affecté à la direction d'un laboratoire d'armée.

Dans les postes qu'il occupa successivement au Soudan, à Djibouti, en Côte-d'Ivoire, au Dahomey, à Madagascar, en A. E. F., BOUFFARD a réalisé sur le plan de l'épidémiologie, de l'hygiène et de l'assistance médicale une œuvre durable, sanctionnée par des applications dont la santé publique de ces divers territoires a largement bénéficié.

Son premier travail qui retient l'attention a trait aux mycétomes à grains noirs dont il observe à Djibouti une forme *non suppurée* qu'il distingue de la forme classique de ces maduromycoses ; son agent étiologique, *Aspergillus bouffardi*, lui est dédié par E. BRUMPT. Durant les 4 ans qu'il passe en pays somali, il procède à une étude très poussée de géographie médicale ; il relève l'extrême fréquence des ulcères phagédéniques dont il s'efforce de rechercher la cause, la reproduction expérimentale, un traitement efficace. Il ne cessera jamais de s'intéresser à ces ulcères qu'il retrouvera partout, tenaces et décevants, et pour sa part apportera une contribution à leur traitement en associant à la poudre de Vincent l'iodoforme et le sous-nitrate de bismuth.

Au début de ce siècle, le rôle des insectes dans la transmission des grandes endémies africaines est à peine connu et BOUFFARD est séduit par les perspectives ouvertes à sa curiosité par cette étude. Il s'y prépare sous la direction de F. MESNIL au cours du stage de 18 mois qu'il effectue à l'Institut Pasteur, tout en se livrant à une étude expérimentale, avec examens histologiques, sur l'injection des couleurs de benzidine aux animaux normaux, prélude aux premiers essais de la chimiothérapie des trypanosomiasés. Il retourne alors au Soudan avec mission d'y créer un laboratoire. Bamako lui semble répondre au mieux à cette réalisation et, autour du dispensaire dont il assure le service, il aménage, avec des moyens combien mesurés, un modeste local ainsi qu'un centre vaccino-gène dont le besoin se fait impérieusement sentir du fait de la précarité des communications qui, sous ce climat torride, ne permettent pas de recevoir de France ou de Saint-Louis un vaccin actif. Après bien des tribulations, il parvient à inoculer des génisses soudanaises qui se montrent d'excellents vaccinifères ; en moins de 2 ans, 300.000 vaccinations sont pratiquées avec un pourcentage de succès inconnu jusque-là. Il aborde ensuite l'épidémiologie des trypanosomiasés et va y consacrer une bonne partie de son activité de chercheur. Sur le terrain comme au laboratoire, ses observations le conduisent à cette donnée que si la *Souma* provoquée par

Tr. cazalboui affecte lourdement les équidés et les bovidés au Soudan, les glossines ne sont responsables que du maintien de l'enzootie; ce sont les stomoxes qui, harcelant sans cesse les troupeaux, déterminent l'épizootie par transmission mécanique. Il montre que la sensibilité du chat et du chien au *Baleri* imputable à *Tr. pecaui* et leur résistance à la *Souma* différencient les deux parasites. Pendant deux mois, BOUFFARD parcourt sur une embarcation où il loge et où il expérimente sur des singes les rives du Bani et de la Volta noire que l'on sait être infestées de tsé-tsés et dépiste plusieurs cas de maladie du sommeil chez les riverains. Il préconise le débroussaillage partiel des rives pour créer des zones dénudées imposées aux indigènes comme prises d'eau, le déplacement des résidences envahies par les tsé-tsés, l'abreuvement des troupeaux dans des auges afin de les soustraire, ainsi que leurs conducteurs, aux piqûres des glossines. Sur l'évolution de *Tr. cazalboui* chez *Gl. palpalis*, il confirme les expériences de ROUBAUD sur les relations entre l'infection limitée à la trompe de la mouche et son pouvoir transmetteur de la maladie. Il procède aux premières recherches sur le paludisme au Soudan et, en 1906, organise la défense de Bamako contre la fièvre jaune alors qu'un cas, resté uni que grâce à la rapidité et à l'énergie des mesures prescrites, vient de se manifester dans la ville. BOUFFARD découvre et décrit une curieuse affection chez des indigènes, caractérisée par de la fièvre et des abcès intramusculaires d'où il isole un microorganisme coccobacillaire que CH. COMME devait retrouver plus tard à Bamako et rattacher au genre *Pasteurella* — *Past. bouffardi* — en même temps qu'il proposait le terme de *pyomyosite* pour définir cette nouvelle entité nosologique, terme maintenant classique. Il signale encore l'existence de la bilharziose au Soudan, de la rage canine en A. O. F.; il rapporte un cas de *goundou* chez un cynocéphale, ce qui lui fait présumer que l'affection est étrangère au pian, lequel ne doit provoquer chez l'homme qu'un pseudo-*goundou*.

Comme Chef du Service de Santé de la Côte-d'Ivoire, puis du Dahomey, BOUFFARD développera les services d'hygiène et de prophylaxie vis-à-vis du paludisme, de la maladie du sommeil, de la fièvre jaune; l'alimentation en eau potable, l'hygiène de l'habitation, la nourriture des travailleurs indigènes seront ses essentielles préoccupations. A Madagascar où il cumule les fonctions de Directeur du Service antipaludique et du Bureau d'Hygiène de Tananarive, et assure en outre durant un an l'intérim de la Direction de l'Ecole de Médecine et de son hôpital d'instruction, sa présence lors de la première épidémie de peste pulmonaire en juin 1921 dans la capitale malgache conjure un désastre; il en a porté le diagnostic et a fait ordonner sans délai les mesures les plus rigoureuses autant

qu'impopulaires qui ont permis de circonscrire le foyer. Il institue le dépistage *post mortem* par les ponctions du foie, technique que je devais, sur ses instances, contrôler dès mon arrivée à Tananarive six mois après et perfectionner dans la suite pour répondre aux objections qu'elle suscitait. Nous savons maintenant qu'elle est la seule méthode qui ait permis et permet encore de connaître l'incidence véritable de la peste dans la grande île et d'y prévenir les explosions de pneumopeste.

Son expérience consommée du paludisme en Afrique noire révèle à BOUFFARD combien l'endémie y diffère dans ses aspects de celle de Madagascar en raison de l'absence de prémunition chez la majorité des autochtones de la zone des Plateaux.

Comme Directeur en A. E. F., il porta tous ses soins à la protection sanitaire de la main-d'œuvre sur les chantiers du chemin de fer Congo-Océan, et notamment, avec le concours de VAUCEL, à la prophylaxie des dysenteries bacillaires par la vaccination avec une toxine formolée.

A ce rappel, encore qu'incomplet, de ce que fut l'œuvre du Médecin Général BOUFFARD, j'ajouterai la qualité du professeur dont j'eus le privilège de suivre l'enseignement de l'épidémiologie à l'école de Marseille. Il savait intéresser ses auditeurs par la précision de ses exposés et un talent d'orateur qu'ont pu apprécier nos collègues qui le virent ici jadis prendre une part active à nos discussions.

Depuis plus de 10 ans, BOUFFARD vivait retiré, ne fréquentant plus qu'un cercle restreint d'amis. Il a voulu que le silence entoure les circonstances de sa mort qui n'a été connue, même de ses intimes, qu'au lendemain de ses obsèques.

G. BOUFFARD avait été vice-président de notre Société en 1934-1935, puis membre du Conseil pendant les 10 années suivantes jusqu'à ce que le rythme normal des élections eût été rétabli. Il n'eût tenu qu'à lui d'accéder à la présidence, mais il déclina à l'avance la suggestion qui lui en était discrètement faite.

Je m'acquitte aujourd'hui d'une dette de reconnaissance envers celui qui fut mon guide et mon conseiller à une heure difficile de ma carrière à Madagascar. En rendant hommage à la mémoire du Médecin Général BOUFFARD, notre Société honore un de ses membres les plus éminents, un pionnier de l'exploration médicale de l'Afrique, un des grands noms de la Pathologie tropicale.

G. GIRARD.

A PROPOS DU PROCÈS-VERBAL

AU SUJET DES BARTONNELLES DE L'HOMME

Par PAUL GIROUD (*)

L'intérêt de l'étude des bartonnelles de la *Veruga peruviana* dont nous a parlé M. PEREZ ALVA (**) réside pour nous tout particulièrement dans la position de cet élément vis-à-vis des divers agents pathogènes.

Ces années dernières, nous avons étudié de gros virus situés au-dessous des rickettsies, à côté de la psittacose ou de son groupe, et que pour la commodité nous avons nommés néo-rickettsies. Ils faisaient la transition entre les rickettsies et les virus.

Il nous restait à faire étudier dans notre service les éléments situés entre les rickettsies et les bactéries. C'est la position des bartonnelles.

D'autre part, nous avons signalé au professeur FRANÇOIS BLANC de la Faculté de Médecine de Marseille tout l'intérêt que nous portions à ces éléments. Et comme nous lui demandions si dans les frottis de sang humain il n'avait pas constaté des éléments de ce type, il nous exposa les faits suivants, se rapportant à une observation faite en 1930.

« Il s'agissait d'un Confrère d'une cinquantaine d'années, rapatrié du Laos depuis quelques mois (trois ou quatre) et qui fut pris soudainement de frissons, rapidement suivis d'ascension thermique importante (39°7-40°), plateau qui dura plusieurs heures et qui descendit dans une inondation sudorale considérable.

« L'impression immédiate était celle d'un accès fébrile à *Plasmodium vivax*, c'est ce qu'avait pensé le Confrère qui vint nous demander de pratiquer un frottis de sang.

« Dans ce frottis coloré au May-Grünwald-Giemsa, nous mîmes en évidence, sur un nombre considérable de globules rouges des corps irréguliers, sphériques ou bacillaires dont les dimensions allaient d'un demi- μ à trois μ , grossièrement.

« Nous avons d'abord pensé à une impureté du colorant déposant banalement sur les hématies, mais les mêmes corps furent retrouvés avec un autre colorant du May-Grünwald-Giemsa et au Stevenel dont nous nous servions couramment.

(*) Séance du 13 mars 1957.

(**) *Bull. Soc. Path. exot.*, 1957, 50. 1, p. 108.

« Les frottis furent montrés à M. PELTIER qui retrouva lui aussi, à l'examen direct, les mêmes parasites endoglobulaires. Il pensait qu'il s'agissait du sang de souris et de bartonnelles.

« Autant que nous puissions nous le rappeler, l'examen clinique de ce Confrère était entièrement négatif. Le lendemain et les jours suivants, les recherches furent entièrement vaines (hélas, aucun sang ne fut inoculé à l'animal). Rien ne fut jamais retrouvé dans le sang périphérique et aucune autre poussée fébrile ne se produisit.

« Nous n'avons jamais publié, évidemment, cette rencontre singulière et nous ne nous en sommes jamais donné une explication valable.

« Avons-nous été abusés par un aspect particulier d'hématies ponctuées bien transitoire que nous n'avons pas interprété, ou avons-nous réellement vu — c'était l'opinion de M. PELTIER — un cas de bartonnellose (s. p.) chez l'homme, fortuitement introduit dans un complexe pathogène inhabituel ? »

Je vous expose ces faits constatés par M. F. BLANC pour que d'autres constatations du même ordre soient rapportées. Trop souvent, nous négligeons de mentionner des constatations qui peuvent dans le futur devenir d'une importance exceptionnelle.

CORRESPONDANCE

A PROPOS DE *PIRHEMOCYTON CHAMÆLEONIS*

Dans une communication présentée avec A. DODIN à la séance du 11 juillet 1956 et publiée dans le n° 5 de 1956 du *Bulletin de la Société* aux pages 807-810, nous décrivions comme espèce nouvelle *Pirhemocyton chamæleonis*, forme endoglobulaire des hématies de *Chamæleo lateralis* à Tananarive. M. R. ROUSSELOT a bien voulu nous faire remarquer qu'il avait déjà décrit sous le même nom un parasite du caméléon d'A. O. F. *Chamæleonis basiliscus* (R. ROUSSELOT, *Notes de Parasitologie tropicale*, 1953, 1, 52, Paris, Vigot, éd.).

Il convient donc de rectifier le titre de notre publication et de lire au lieu de « *Pirhemocyton chamæleonis* n. sp. » : *Pirhemocyton chamæleonis* Rousselot, 1953.

Tananarive, le 29 mai 1957
(Docteur E. R. BAYGOO).

COMMUNICATIONS

LA MALADIE DE CARRION

Essai d'infection expérimentale de la souris blanche
par voie intranasale par *Bartonella bacilliformis*

Par SIMON PEREZ ALVA (*)

C'est en 1905 que BARTON (2) a décrit l'agent étiologique spécifique de la maladie et en 1929 que NOGUCHI et BATTISTINI (4) en ont réussi la culture sur milieu au sang. De nombreux travaux ont été consacrés à l'expérimentation sur les animaux. Les cultures, les sécrétions et les organes d'individus malades ou morts de cette maladie ont tour à tour été utilisés comme matériel d'inoculation. Toutes les voies, sous-cutanée, intradermique, intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse et scrotale ont été systématiquement tentées sur la plupart des animaux de laboratoire.

Nous indiquons ci-dessous les espèces d'animaux employés (**).

Singes. — En 1910, W. JADASSOHN et G. SEIFERT (11), en 1914 RIBEYRO, MACKEHENIE et ARCE (22). En 1926 NOGUCHI (17), 1926 T. BATTISTINI (4), 1927 MAYER et KIKUTH (13), 1928 MARQUEZ DACUNHA et MUNIZ (14), 1929 L. ALDANA (1), 1929 NOGUCHI, MULLER, TINDEN et TYLER (18), 1931 W. KIKUTH (12), 1937 D. WEIMAN et H. PINKERTON (29), 1953 WIGAND et F. WYER (31).

Chiens. — En 1899 TAMAYO (25), 1929 NOGUCHI, MULLER, TINDENT et TYLER (18), 1929 L. ALDANA (1), 1940 B. SAMPER et MONTOYA (26) et en 1937 D. WEIMAN et H. PINKERTON (29).

Anes. — En 1903 BARTON, 1914 RIBEYRO et MACKEHENIE (22), 1929 NOGUCHI et autres.

Lapins. — En 1914 RIBEYRO, MACKEHENIE et ARCE (22), STRONG, TYZZER, BRUES, SELLARDS et GASTIABURU (27), 1929 L. ALDANA (1), en 1943, HOWE CALDERON (9), etc.

Cobayes. — En 1914 RIBEYRO, MACKEHENIE et ARCE (22), 1929 L. ALDANA (1), 1934 SCHWETZ (28), 1937-1938 D. WEIMAN et PINKERTON (29), 1928 H. NOGUCHI (17), 1930 C. SCHIN et CHOSEN, 1940 SAMPER, MONTOYA et autres (26), etc.

(*) Séance du 10 avril 1957.

(**) Nous remercions le docteur PAUL GIROUD pour toutes les facilités qu'il nous a données.

Ecureuils. — En 1952, ARISTIDES HERRER (10).

Poulets et poules. — En 1929 L. ALDANA (1), 1933 MACKEHENIE et JIMENEZ FRANCO (15), en 1937 D. WEIMAN et H. PINKERTON (29), etc.

Il existe encore d'autres travaux concernant l'inoculation aux poux (31), tiques et reptiles, à l'œuf, etc.

En résumé, la bartonelle bacilliforme est seulement pathogène pour l'homme et d'après NOGUCHI (19), BATTISTINI (4), MAYER et KIKUTH (13), PINKERTON et WEIMAN (21), pour le singe *Macacus rhesus*. Ce dernier résultat a été accepté avec beaucoup de réserve par WEIMAN (30), PITALUNA (20), MARQUEZ, DACUNHA et MUNIZ (14), ALDANA (1), etc. et récemment par WIGAND et WYER (31) en 1953, car aucun de ces auteurs n'a réussi à obtenir la reproduction de l'anémie grave de Carrion chez ces singes, tout en obtenant le verrucome.

MÉTHODES D'ÉTUDE

a) Nous avons utilisé deux souches de bartonelles : la souche 529, isolée il y a 15 ans et entretenue depuis au laboratoire par culture *in vitro* et la souche 267, isolée depuis 1948 à Lima d'une maladie mortelle.

Les deux souches ont été cultivées sur milieu de NOGUCHI (16), milieu semi-solide et sur milieu de HERCELLES et coll. (8), milieu liquide et sur gélose-sang (1). La température était de 28° C pendant 3 à 5 jours d'incubation.

b) Les souris blanches utilisées étaient âgées de 1 à 60 jours. Elles étaient inoculées, suivant la technique classique, par voie intranasale, après anesthésie, puis sacrifiées à des temps variables.

c) *Substances adjuvantes.* — Pour diminuer la résistance des souris, nous avons inoculé en même temps que les bartonelles, de la cortisone ou de la toxine de *Salmonella enteritidis* ou de la mucine, de l'hyaluronidase ou du largactil (voir tableau).

RÉSULTATS

Au total 216 souris ont été inoculées et sacrifiées. Le sang de ces animaux était examiné après coloration au Giemsa et au Macchiavello et cultivé sur milieu spécial.

Bartonella bacilliformis ne produit pas d'infection chez la souris blanche par inoculation intranasale. Nous pouvons affirmer qu'aucun des animaux n'a été malade par suite de l'action pathogène de la bartonelle. Tous les cas mortels ont été causés par la virulence des microbes propres à ces animaux (*Streptobacillus*

moniliformis, salmonelles, pneumobacilles de FRIEDLANDER, staphylocoques) auxquels s'ajoutait une diminution de la résistance exercée par la cortisone, la mucine, la toxine et le largactil.

Schéma des types d'essais faits sur la souris blanche.

Groupes	Type d'expérience	Nombre d'animaux	Voie d'inoculation	Sang	Contrôle		Foie	Culture	Résultats
					Poumon	Rate			
I	Bartonelle.	56	nasale	—	—	—	—	—	négatif
II	Bartonelle. Cortisone.	36	nasale I. M.	—	+	—	—	—	douteux
III	Bartonelle. Toxine.	50	nasale I. M.	—	+	—	—	—	négatif
IV	Bartonelle. Mucine.	26	nasale I. M.	—	—	—	—	—	négatif
V	Bartonelle. Hyaluronidase.	12	nasale	—	—	—	—	—	négatif
VI	Bartonelle. Mucine. Toxine.	12	nasale nasale I. M.	—	—	—	—	—	négatif
VII	Bartonelle. Mucine. Largactil.	12	nasale nasale I. M.	—	—	—	—	—	négatif
VIII	Bartonelle. Mucine. Cortisone.	12	nasale nasale I. M.	—	—	—	—	—	douteux

RÉSUMÉ

On a inoculé par voie intranasale 216 souris blanches en utilisant des souches variées de *Bartonella bacilliformis*. Les cultures ont été faites sur milieu de NOGUCHI, sur gélose au sang et sur milieu de HERCELLES-TORREALVA et ALDANA, modifié par GIDMAN, à la température de 28° C pendant 3 à 5 jours. Des substances inhibitrices de la résistance ont été employées : la cortisone, la toxine de *S. enteritidis*, la mucine, l'hyaluronidase et le largactil. Des cultu-

res et des colorations (Giemsa et Macchiavello) du sang et des organes des souris ont été pratiquées. Il n'a jamais été possible de produire l'infection de cet animal.

*Institut Pasteur de Paris,
Service de Rickettsioses
(Docteur PAUL GIROUD)
et Centre National de la Recherche Scientifique.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ALDANA (L.). — Bacteriologia de la Enfermedad de Carrión. Tes Bach. Fact. Med. *Crón. Med.*, 1929, 46, 235 Lima, Perú.
- (2) BARTON (A.). — Cuerpos endoglobulares en la sangre verrucosa. *Gac. Med. Hopst.*, 1905, 2, 46, Lima, Perú.
- (3) BARTON (A.). — Descripción de los elementos endoglobulares hallados en los enfermos con fiebre de la Oroya. *Crón. Med.*, 1909, 26, 7, Lima, Perú.
- (4) BATTISTINI (T.). — Estudio experimental sobre la localización del virus verrucogeno. *Rev. Med. Soc. Fact. Med. Lima*, Perú, 1920.
- (5) GIROUD (P.) et PANTHIER (R.). — Il est possible d'adapter directement au poulmon de souris un virus de typhus historique isolé et conservé sur cobaye. *C. R. Acad. Sc.*, 1941, 212, 61.
- (6) GIROUD (P.) et PANTHIER (R.). — Adaptation directe au poulmon de souris d'une souche de typhus historique isolée et conservée sur cobaye. Comportement des rickettsies au cours de cette expérience. *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, 68, 137.
- (7) GIROUD (P.) et PANTHIER (R.). — Il est possible de cultiver et de conserver sur poulmon de lapin une souche de typhus épidémique européen. *C. R. Acad. Sc.*, 1941, 213, 462.
- (8) HERCELLES, TORREALVA y ALDANA. — El germen de la verruga peruana. *Ann. Fact. Med. Lima*, Perú, 1927, 10, 231.
- (9) HOWE CALDERON. — Carrions disease. Immunologic studies. *Arch. Inst. Med.*, 1945, 72, 147.
- (10) HERRER (A.). — Carrions disease experimental infections of Squirrels. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.*, 1953, 2, n° 4.
- (11) JADASSOHN (W. E.), SEIFERT (G.). — *Hyg.*, 1910, 66, 347. *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, 8, 977.
- (12) KIKUTH (W.). — *Z. Immunforsch.*, 1931, 73, 1. *Erg. Hyg. Unw.*, 1932, 13, 560.
- (13) MAYER und KIKUTH (W.). — Zur Atiologie und Eintheit der Verruga peruana und Oroya Fiebers. Verhandlung aus den Gebiet der Auslanskunde. *Hamburgische Universität*, 1927, 26, 319.
- (14) MARQUEZ DACUNHA y MUNIZ (J.). — Pesquisas sobre la verruga peruana. *Memorias do Inst. Oswaldo Cruz*, 1928.
- (15) MACKEHENIE y JIMENEZ FRANCO. — Acerca del mozaico de poderes de la Bartonella bacilliforme. *Ref. Med. Lima, Perú*, 1935, 49, 677.
- (16) NOGUCHI (H.) y BATTISTINI (T.). — Relación preliminar sobre el cultivo de la Bartonella en la fiebre de Oroya Reimp, por Ciencias Peh.. Lima, Perú, 1926, 49, 212.

- (17) NOGUCHI (H.). — III. The behavior of *Bartonella bacilliforme* in *Macacus rhesus*. *J. Exp. Med.*, 1926, 44, 697.
- (18) NOGUCHI (H.), MULLER, TINDEN (E.) and TYLER (J.). — Etiology of Oroya Fever. XVI. Verruga in the dog and the monkey. *J. Exp. Med.*, 1929, 50, 455.
- (19) NOGUCHI (H.). — IV. The effect of inoculation of antropoide with *Bartonella bacilliforme*. *J. Exp.*, 1926, 44, 715.
- (20) PITALUNA. — Les Infections à *Bartonella*. *Bull. Inst. Pasteur*, 1938, 36, 961.
- (21) PINKERTON and WEIMAN (D.). — Carrions disease. II. Comparative morphology of the etiological agent in Oroya fever and verruga peruana. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1937, 37, 591.
- (22) RIBEYRO (R.), MACKEHENIE Y ARCE. — Inoculabilidad de la verruga peruana en los animales. *Crón. Med. Lima, Perú*, 1941, 34, 109.
- (23) RUIZ CASTENADA. — *Am. J. of Path.*, 1930, 15, 457.
- (24) RUIZ CASTENADA. — *Medicina*, Mexico, 1938, 18, 607.
- (25) TAMAYO (O.). — Inoculabilidad de la verruga. Resultados positivos de una inoculación de sangre verrucosa. *Crón. Med. Lima, Perú*, 1899, 16, 81.
- (26) SAMPER (B.) y MONTOYA (J.). — Estudios bacteriologicos y experimentales de un germen aislado de una epidemia de bartonellosis en el Dto. de Nariño. (Colombia). *Rev. Med. Bogota*, 1940, 9, 197.
- (27) STRONG (R.), TYZZER (E.), BRÜES, SELLARDS and GASTIABURU (J.). — The Harvard School of Tropical Med. *Report of the first expeditions to South America*, 1913, 14, 1, 220. Cambridge, Mass.
- (28) SCHWETZ. — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1934, 27, 6, 515-522.
- (29) WEIMAN (D.) and PINKERTON (H.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1937, 37, 594.
- (30) WEIMAN (D.). — Infectious anemias due to *Bartonella* and related to red cell parasited. *Trans. of Am. Phil. Sc.*, new series, 1944, 33, 243.
- (31) WIGAND und WYER (P.). — Neue Untersuchungen über *Bartonella bacilliformis*. Mitteilung: Übertragungsversuche und auf Kleiderlause. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 1953, 4, Heft 2.

LA MALADIE DE CARRION

Etude morphologique de *Bartonella bacilliformis* au microscope électronique.

Par S. PEREZ ALVA et J. GIUNTINI (*) et (**)

INTRODUCTION

Les premières recherches sur *Bartonella bacilliformis* au microscope électronique datent de 1952 avec les travaux de D. PETERS et R. WIGAND (8). Ces auteurs avaient étudié les différentes phases de

(*) Séance du 10 avril 1957.

(**) Collaboration technique de D. LE GOFF (partie photographique).

la culture *in vitro*. En 1953, R. WIGAND, D. PETERS et O. URTEAGA ont publié leurs conclusions au sujet du parasitisme globulaire d'origine humaine.

Avec l'Ecole de Hambourg, nous avons constaté que la Bartonelle montre, au microscope optique, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, un polymorphisme qui va du bacille pour BARTON (2), BATTISTINI et NOGUCHI (7), GASTIABURU et REBAGLIATTI (4), STRONG et coll. (12), au coque pour HERCELLES (5), au coccobacille pour L. ALDENA (1), voire même à la forme en haltère pour MACKENHENIE et WEISS (6).

MATÉRIEL

1. — Souche.

Nous avons expérimenté avec la souche n° 529 de l'Institut National d'Hygiène de Lima (Pérou), conservée depuis plus de quinze ans par passages successifs sur milieu de Noguchi.

2. — Cultures.

Nous avons utilisé : un milieu liquide avec lequel nous avons obtenu de très bons résultats et dont la formule est la suivante :

Protéose peptonée	5 g.
Bactotryptone	5 g.
Extrait de viande	3 g.
ClNa	5 g.
Acide ascorbique	1 g.
Sang de lapin	10 à 15 cm ³
Hémoglobine de lapin	20 à 30 cm ³
Eau distillée	900 cm ³

Le milieu gélosé au sang (50 o/o) en position inclinée, avec liquide de condensation.

En milieu liquide, après trois jours d'incubation à 28° C, à l'obscurité, le développement commence par une mince pellicule en surface et un dépôt au fond du tube. Quand la culture est abondante on centrifuge à 5.000 tours/minute pendant 30 minutes, puis on lave trois fois avant fixation à l'acide osmique.

Le milieu gélose au sang est idéal pour observer la mobilité et les flagelles soit à partir de petites colonies se développant à la surface solide, soit à partir du liquide de condensation. Le matériel prélevé sur ce milieu a été observé directement afin de ne pas détruire les cils.

3. — Microscopes électroniques.

On a employé indistinctement :

- 1) un appareil CSF (français), à lentilles électrostatiques fonctionnant à 40.000 volts;
- 2) un appareil Siemens (allemand), à lentilles électromagnétiques, dont l'accélération des électrons est de 80.000 volts.

Les préparations destinées à être examinées au microscope électronique se faisaient en partant de suspensions en eau distillée (+ 0 g. 3 de NaCl pour 1.000 cm³) et généralement fixées à l'acide osmique (1/1.000^e). On déposait une microgoutte sur des grilles métalliques recouvertes d'une membrane en formvar qu'on laissait s'évaporer soit à l'air libre, soit sous ultra-violet. Avant d'être observées au microscope électronique ces préparations étaient ombrées par projection d'or-palladium évaporé sous vide sous un angle d'environ 15°.

RÉSULTATS

Nous les avons classés sous les rubriques suivantes :

1. — Formes et structures.
2. — Expulsion des granulations de la bartonelle sous l'action de la centrifugation.
3. — Flagelles.
4. — Dimensions des corps microbiens et des flagelles.
5. — Reproduction.

Planche I

Fig. 1. — Culture de 8 jours non centrifugée. Forme bacillaire montrant des zones circulaires cytoplasmiques de faible densité (Gr. 12.000 ×).

Fig. 2. — Culture de 15 jours non centrifugée. Forme coccobacillaire. On observe une légère rétraction du cytoplasme et un granule contre la membrane extérieure (Gr. 12.000 ×).

Fig. 3. — Culture de 22 jours centrifugée et lavée. Forme bacillaire et coccobacillaires, granules extérieurs (Gr. 12.000 ×).

Fig. 4. — Culture de 22 jours centrifugée et lavée. Forme bacillaire en division avec rétraction du cytoplasme et membrane cellulaire. Deux granulations symétriques semblent sortir de l'intérieur de la cellule (Gr. 12.000 ×).

Fig. 5. — Culture de 70 jours. Formes coccobacillaires, rétraction du cytoplasme et membrane cellulaire. Granulations diverses dans les structures (Gr. 12.000 ×).

Fig. 6. — Culture de 22 jours centrifugée et lavée. Coccobacille ; rétraction du cytoplasme et membrane périphérique. Deux granulations extérieures (Gr. 12.000 ×).

Fig. 7. — Culture de 48 jours centrifugée et lavée. Formes bacillaires, coccobacillaires coccoïdes (Gr. 10.000 ×)

Fig. 8. — Culture de 110 jours non centrifugée. Amas coccobacillaires et coccoïdes présentant de nombreux flagelles (Gr. 12.000 ×).

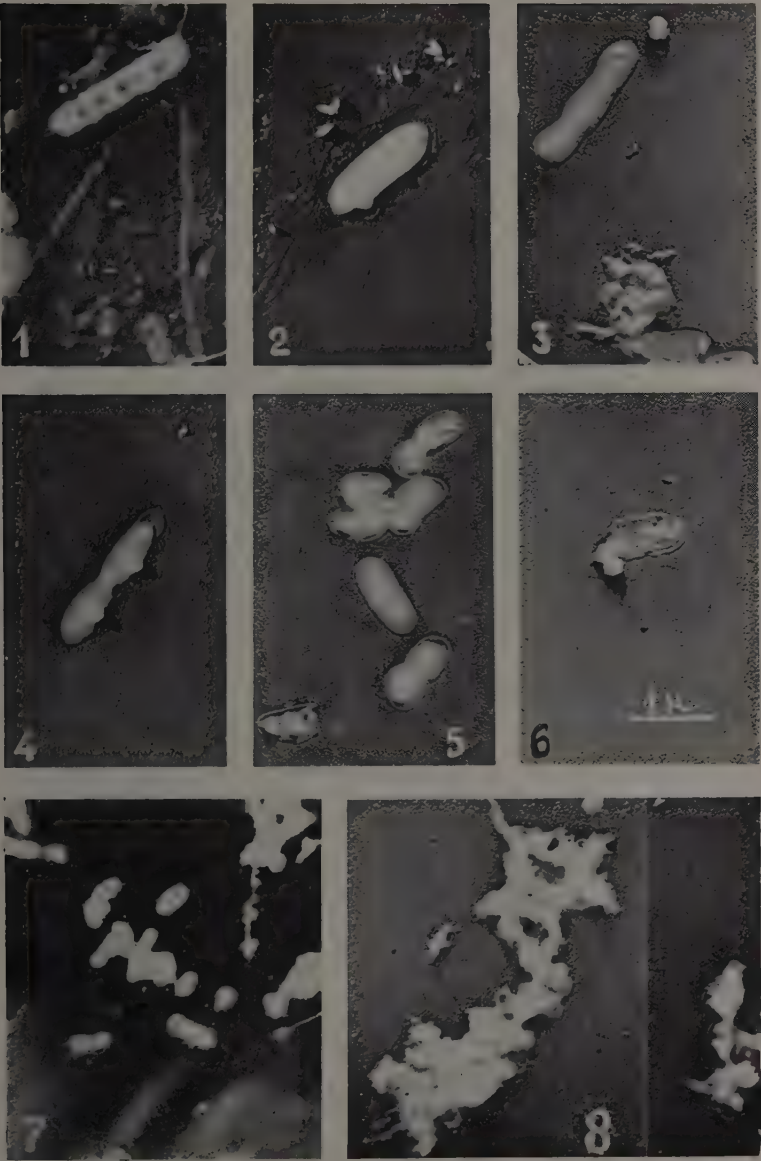


Fig. 1 à 8.

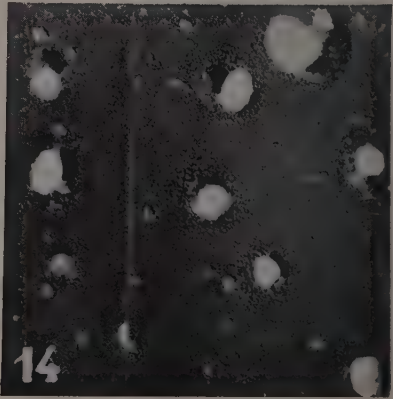
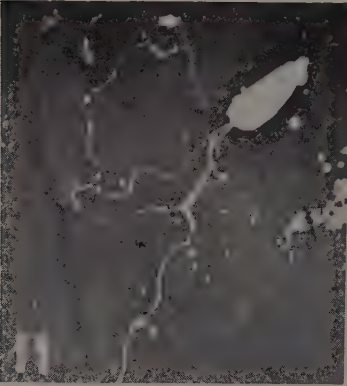
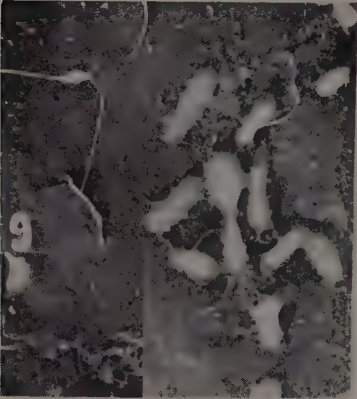


Fig. 9 à 14.

1. — *Formes et structures.*

Toutes les formes signalées par les auteurs (1) (7) (8) (9) (10) s'observent au microscope électronique : formes coccoïdes (fig. 7, 8, 12, 14), bacillaires (fig. 1, 2, 3, 4, 8, 9, 13). en diplocoques (fig. 3, 5, 9). Il est facile de noter la présence d'une membrane cellulaire (fig. 2, 3, 4, 5, 6), la rétraction du cytoplasme (fig. 4, 5, 6) qui s'observe surtout dans les formes centrifugées alors que les formes non centrifugées prises directement sur les milieux de culture montrent une structure plus uniforme et un corps microbien lisse.

2. — *Expulsion des granulations de la bartonelle traitée par la centrifugation.*

Les granulations ne sont visibles qu'au microscope électronique avec les cultures jeunes sur gélose au sang (fig. 2, 3, 4, 5, 6). Il est possible que la centrifugation ait provoqué l'apparition de ces corpuscules dépendant du cytoplasme. Ainsi la figure 5 représente des corpuscules à l'intérieur de la cellule, on observe un début d'expulsion sur la figure 4 et l'on voit les corpuscules sortis sur les figures 3 et 6.

Nous admettons que ces granulations existent avant la dégénération du cytoplasme et de la membrane, d'ailleurs la figure 2 s'accorde avec nos constatations en montrant dans la partie centrale un cytoplasme bien défini et sur le côté une papille, le tout étant entouré d'une membrane.

3. — *Flagelles.*

Tous les auteurs reconnaissent la mobilité et la présence de flagelles chez les bartonelles (7) (3) (8). Pour notre part nous avons eu l'occasion de constater les plus beaux flagelles sur le milieu

Planche II

Fig. 9. — *Bartonella*. Culture de 30 jours non centrifugée. Formes bacillaires et coccobacillaires montrant souvent une rétraction du cytoplasme et des flagelles. Un bartonelle montre une division presque achevée (Gr. 12.000 $\times$).

Fig. 10. — Bartonelles en amas et flagelles très nombreux (Gr. 12.000 $\times$).

Fig. 11. — Forme bacillaire qui montre à son extrémité 3 à 4 flagelles d'environ 6 à 7 μ de longueur.

Fig. 12. — Forme coccoïde présentant à son extrémité des flagelles.

Fig. 13. — *Bartonella*. Culture non centrifugée (Gr. 12.000 $\times$). Culture de 8 jours montrant des zones claires.

Fig. 14. — Culture de 110 jours ne présentant que des formes coccoïdes.

gélose au sang, après une culture de 8 à 15 jours (fig. 8, 9, 10, 11, 12). En raison de la fragilité des flagelles, il faut prélever la culture avec beaucoup de soins à la surface de la gélose et diluer soit directement sur les grilles métalliques, soit par l'intermédiaire d'une suspension préalable, fixée à l'acide osmique.

Avec PETERS et WIGAND, nous pensons que les flagelles sont d'origine cytoplasmique, au nombre de trois ou quatre, avec une insertion commune (fig. 9, 11, 12) ceux-ci peuvent être spirales.

Lorsqu'on est en présence d'agrégaats bactériens, les flagelles, en grande quantité, s'entrecroisent (fig. 9 et 10), certains tendent à se détacher et se retrouvent plus ou moins libres dans le milieu (fig. 9).

Nous avons aussi, au microscope à fond noir, étudié la mobilité propre des bartonelles (torsions et déplacement) en prenant une goutte du liquide de condensation ou en prélevant un échantillon sur gélose au sang, et en observant immédiatement.

4. — Dimensions des corps microbiens et des flagelles.

En raison du polymorphisme des bartonelles, on ne peut établir que des dimensions maxima, minima ou moyennes.

NOGUCHI et BATTISTINI (7) en 1926 et L. DE ALDENA (1) en 1928 ont, à l'aide du microscope ordinaire, donné les premiers renseignements à ce sujet. PETERS et R. WIGAND en 1952 n'ont étudié avec le microscope électronique que les corps microbiens. Nous avons résumé nos résultats sur les corps microbiens et les flagelles dans un tableau.

Tableau schématique et comparatif des dimensions des formes microbiennes de Bartonella bacilliformis.

Auteurs	ALDANA, 1920	NOGUCHI, BATTIS- TINI, 1926	PETERS, WIGAND, 1952		PEREZ ALVA, GIUNTINI, 1957			
Formes	Bacil- laire	Bacillaire	Bacil- laire corps	Fla- gelles	Bacil- laires	Cocco- bacilles	Coc- coïdes	Flagelles
Longueur μ .	1,8 à 0,5	2,5 à 0,3	2 à 0,4	30 à 4	1,9 à 0,8	1 à 0,5	0,9 à 0,25	20 à 2
Largeur μ .	0,5 à 0,2	0,5 à 0,2	1 à 0,37	0,02	0,7 à 0,2	0,6 à 0,3	0,8 à 0,2	0,03 env.
Observation par	Microscope optique (à fond noir)		Microscope électronique					

5. — *Reproduction.*

PETERS et WIGAND (8) ont reconnu que la division binaire était la forme de reproduction des bartonelles. C'est ce que nous avons constaté au microscope électronique avec une grande netteté (fig. 4, 5 et 9).

CONCLUSION

Bartonella bacilliformis se classe parmi les bactéries, par la présence d'un cytoplasme différencié, d'une membrane et de flagelles, par ses dimensions et sa mobilité. Ses caractères, ses flagelles et la culture *in vitro* l'éloignent des virus et des rickettsies, et des protozoaires anaplasmes, épérytrozoons, gralamelles.

RÉSUMÉ

Notre étude de *Bartonella bacilliformis* au microscope électronique, nous a permis de confirmer des observations antérieures, de voir une membrane cellulaire, des granulations intracytoplasmiques très différentes des dégénéralions possibles du cytoplasme ou de la membrane, de mesurer avec précision la dimension des corps bactériens et des flagelles, enfin d'observer avec netteté la division binaire.

Toutes ces constatations permettent indubitablement de classer *Bartonella bacilliformis* parmi les bactéries.

*Institut Pasteur,
Service des Rickettsioses (Docteur P. GIROUD) et C. N. R. S.,
Laboratoire de Microscopie électronique.*

BIBLIOGRAPHIE

1. ALDANA (L.). — Bacteriologia de la Enfermedad de Carrion. *Tes. Bach. Cron. Med. Lima*, 1929, 46, 235.
2. BARTON (A.). — Descripcion de elementos endoglobulares hallados en los enfermos de fiebre verrucosa. *Cron. Med. Lima*, 1909, 26, 7.
3. BATTISTINI (T.). — Contribucion al estudio de la verruga peruana. Cultivo de la *Bartonella bacilliforme*. *Ana. Fact. Med.*, 1927, 10, 243.
4. GASTIABURU (J.) et REBAGLIATI (R.). — Sobre la hamatologia y la etiologia de la Enfermedad de Carrion. *Cron. Med. Lima*, 1909, 26, 377.
5. HERCELLES (O.) et coll., TORREALVA (F.) et ALDANA (L.). — El germen de la verruga peruana. *Ana. Fact. Med. Lima*, 1927, 10, 231.

6. MACKEHENIE (D.) et WEISS (P.). — Contribucion al estudio de la ver-ruga peruana. *Rev. Soc. Med. Union Fernd. y C. E. Lima*, 1925, 12.
7. NOGUCHI (H.) et BATTISTINI (T.). — Relacion preliminar sobre el cultivo del microbio de la Fiebre de Oroya. *J. Exp. Med.*, 1926, 43, 851.
8. PETERS (D.) et WIGAND (R.). — Neue Untersuchungen über Bartonella bacilliformis. 1. Mitteil. : Morphologie der Kulturform. *Z. Tropenmed. und Parasitol.*, 1952, 3, 313.
9. PETERS (D.), WIGAND (R.) et URTEAGA (O.). — Neue Untersuchungen über Bartonella bacilliformis. 4. Mitteil. : Elektronenoptische Darstellung aus dem Blut. *Z. Tropenmed. und Parasitol.*, 1953, 4, 539.
10. PETERS (D.) et WIGAND (R.). — Bartonellacea. *Bact. Rev.*, 1955, 19, n° 3.
11. PJIPIER (A.). — *J. Bact.*, 1947, 55, 257.
12. STRONG (R. P.), TYZZER (E.), BRUES, SELLARDS (A.) et GASTIABURU (J. C.) — Informe preliminar de la exposicion del Dpto. de Medicina Tropical de la Univ. de Harvard a Sudamérica. *Cron. Med. Lima*, 1914, 31, 2.

INFECTIONS NÉO-RICKETTSIENNES DE L'HOMME APRÈS PIQÛRE DE *DERMACENTOR MARGINATUS*

Par PAUL GIROUD et J. COLAS-BELCOUR (*)

E 717

Les infections humaines par piqûres de tiques, en dehors de la classique fièvre boutonneuse due à *Rickettsia conori*, sont à peu près inconnues en France. Elles sont, cependant, bien répandues dans d'autres pays. Les encéphalites à tiques ont fait l'objet de nombreuses études, en particulier en Europe Centrale d'où nous avons importé de nombreux gibiers. Ces gibiers et leurs tiques devraient au moins avoir apporté ici ces types de virus, s'ils n'avaient été déjà présents.

Au cours de nos prospections sur la fièvre Q, en interrogeant les médecins praticiens, nous avons acquis la certitude que certains ictères infectieux avaient suivi des piqûres de tiques. Entre autres praticiens, le docteur DE BESSÉ, de Montmarault (Allier), avait été frappé par cette pathologie existant surtout en mars pendant le taillage des haies et pendant la période de chasse. Il nous rapportait en 1952 l'observation suivante :

M. B... est piqué par une tique dans la région du mamelon. Il existe une trainée de lymphangite et une escarre noirâtre au point d'inoculation. L'escarre tombera le 5^e jour de la maladie en laissant une suppu-

(*) Séance du 10 avril 1956.

ration qui persistera quelques jours car la tique n'a été que partiellement arrachée. La maladie a débuté 6 jours après la piqure par des céphalées, des vomissements, un subictère, puis ictère léger le 2^e jour. Il y a de la raideur de la nuque et de la constipation. La température, au début à 40°, descend en 5 jours vers 38°, puis il persiste une fébricule attribuée à la suppuration. Aucune réaction sérologique n'a été faite pouvant authentifier la maladie.

Nous avons été amenés dans la suite à suivre l'évolution sérologique et clinique d'un marchand de chevaux ayant présenté une hyperthermie à rechutes s'accompagnant d'ictère et d'albuminurie. 3 semaines après une piqure de tique. C'est dans les prés où il allait étiquer ses chevaux, dont deux étaient morts à la suite de piqures de tiques et chez lesquels le traitement contre la piroplasmose était resté sans effet, qu'une tique s'était fixée sur son dos. Il n'y avait pas eu d'escarre. Malheureusement, dans ce cas, la tique qui n'avait pas été conservée, n'a pu être identifiée.

Le sérum examiné les 4^e, 12^e et 24^e jours, comme beaucoup de ceux que nous avons étudiés, d'abord légèrement positif sur l'antigène boutonneux, est devenu à partir du 12^e jour positif surtout sur nos antigènes X.14 et V.14 d'abord en agglutination, puis en fixation du complément.

Cette dernière observation a été présentée par M. LEMIERRE à la Société Médicale des Hôpitaux de Paris (P. GIROUD, J. JADIN, F. ROGER, N. DUMAS, CL. POT et M. PITALLIER, *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 1955, 15-16, p. 548).

Maintenant, nous allons rapporter les observations qui font l'objet de cette note.

Mme M... (11.310), accompagnée de ses deux enfants, arrive le 1^{er} avril pour les vacances de Pâques à Vincelles (Yonne), village situé sur la route d'Auxerre à Avallon, à 12 km. d'Auxerre. Elle habite une maison où il n'y a pas de chiens. Cette femme de 41 ans, parisienne, va le jour de Pâques, le 10 avril, cueillir des primevères avec ses deux enfants.

Ce n'est que le 14 qu'elle présente les premiers symptômes et, cependant, depuis le 10 elle avait une tique fichée dans le cuir chevelu, mais elle avait pris cette tique pour un bouton. Lorsqu'elle fut gorgée, la tique devint mobile et à ce moment-là, elle reconnut un parasite.

Le cuir chevelu du sommet du crâne est œdématié, rouge et douloureux. La température était à 39°5 et l'on constatait en même temps que des ganglions cervicaux, une angine ressemblant à une angine de Vincent. A la suite d'une deuxième injection de bipénicilline, elle éprouve une sensation de mort imminente qui dure 3 jours. Cet état d'inquiétude se répète presque toutes les heures, puis la fièvre diminue pour arriver à la normale le 19 avril. Le 16 juin, elle fait une rechute et la température monte à 40°, elle a de très forts maux de tête, une angine rouge. Après un dernier clocher à 38°4, le 19 juin, la température redevient normale. Le 24 juin, elle présente un érythème nodulaire dispersé qui dure environ 6 jours, douloureux à la pression surtout dans la région pré-tibiale.

Le sérum de cette malade est examiné sur différentes souches et comme il y a des ganglions et une hyperthermie, nous le transmettons au docteur GIRARD pour un diagnostic de tularémie. Celui-ci est complètement négatif. Ce fait étant éliminé, nous examinons ce premier prélèvement et voici les résultats que nous constatons sur nos antigènes, un mois après le début de la maladie.

Il y a une très légère agglutination sur l'antigène épidémique, l'antigène boutonneux est bien agglutiné à 1 : 160, la souche murine et *Rickettsia burneti* sont négatives. Nos antigènes X.14, V.14 et T.13 sont négatifs en agglutination, mais deux d'entre eux X.14 et T.13 sont positifs en fixation du complément.

Nous réexaminons le sérum de cette malade 1 mois 1/2 plus tard. Il est négatif sur tous nos antigènes sauf sur l'antigène boutonneux, réaction positive ++ à 1 : 160.

Depuis cette époque, Mme M... se plaint de vertiges, de faiblesse dans les jambes, de sensations d'angoisse, en même temps que de palpitations puis tout rentre dans l'ordre.

Mlle M... BRIGITTE (11.311), 5 ans 1/2. Le 18 avril, c'est-à-dire 8 jours après la promenade, a mal à la tête. On constate chez elle la présence d'un « pou de bois ». Notre collègue, le docteur VILLATRE, de Coulanges-la-Vineuse, le met dans un tube d'alcool. Il s'agit de *Dermacentor marginatus*. Ce *Dermacentor* était en train de se gorger; il y a une escarre noirâtre et un ganglion. BRI... a surtout mal à la tête à partir du 10 juin. Elle a en même temps une angine et présente une véritable réaction méningée qui fait procéder à un examen du fond d'œil; celui-ci est normal.

Comme nous connaissions les antécédents de la mère et quoiqu'il n'y ait jamais eu d'épisode fébrile, mais seulement une réaction méningée pendant 3 jours, nous pratiquons le 30 juin, 1 mois 1/2 après, des réactions sérologiques. Le sérum de cette fillette est négatif sur l'antigène boutonneux, sur X.14 et T.13 en agglutination. Il est positif sur l'antigène V.14. La fixation du complément est négative sur l'antigène X.14, V.14 et T.13.

En résumé, chez une enfant ayant présenté après piqure de tique une escarre et un ganglion, on constate une réaction méningée et une réaction positive vis-à-vis de l'antigène V.14.

Mlle M... BERNADETTE (11.312), 9 ans, chez laquelle on n'a pas trouvé de tique, présente le 22 juin un état de malaise avec hypersomnie le 25 et une température à 39°. Le 27, elle présente un érythème scarlatiniforme s'étendant depuis le cou jusqu'au haut des cuisses, quoique sa langue soit absolument normale. Pour cette raison, nous éliminons le diagnostic de scarlatine et prélevons du sang. Celui-ci est aussi positif, comme celui de sa sœur et de sa mère, vis-à-vis de l'antigène V.14.

En résumé, chez une enfant de 9 ans, on constate de l'hypersomnie,

une température à 39°, puis une éruption généralisée avec langue normale et une réaction positive vis-à-vis de l'antigène V.14. C'est ce résultat sérologique qui nous fait rapprocher ce cas des précédents, soit qu'il y ait eu passage d'homme à homme, soit qu'il y ait eu contamination par piqûre de tique passée inaperçue.

L'importance des observations que nous avons rapportées est grande. Chez trois personnes, on voit évoluer une affection hyperthermisante, s'accompagnant ou non de réaction méningée qui dans deux cas font suite à une piqûre de *Dermacentor marginatus*. Il n'y a pas eu seulement piqûre, mais les tiques se sont gorgées sur ces sujets. Après un temps variable, ces sujets ont présenté des symptômes divers, mais tous réagissent sur nos antigènes néorickettsiens X.14 ou V.14.

PREMIER CAS DE RAGE OBSERVÉ EN A. E. F. CHEZ UN CHIEN VACCINÉ PRÉVENTIVEMENT

Par J. CECCALDI, H. LEPISSIER et P. MERVEILLE (*)

La vaccination antirabique préventive du chien, d'une application facile malgré la multiplicité des méthodes employées, est maintenant largement répandue. Conseillée par nous en A. E. F. dès 1943, elle y est autorisée depuis 1944, et fit l'objet, à l'époque, d'un arrêté local (1) pris en accord avec le docteur vétérinaire MALBRANT, Inspecteur Général de l'Élevage.

Cette vaccination a fait ses preuves et atteint les buts qu'elle se proposait en réduisant, d'une part, l'incidence de la rage et en permettant, d'autre part, le traitement efficace des chiens vaccinés qu'il n'est plus nécessaire d'abattre quand ils viennent à être mordus ou roulés par des animaux enragés.

Qui plus est, la notion semble s'être accréditée chez le profane, voire chez certains médecins praticiens insuffisamment instruits des problèmes qui touchent à la vaccination antirabique préventive des chiens, que les personnes mordues par un chien vacciné n'ont pas besoin de se soumettre au traitement préventif antirabique parce qu'un tel chien ne peut contracter la rage s'il vient à être mordu par un chien enragé et, partant, ne peut transmettre l'affection.

S'il est hors de doute que les chiens vaccinés préventivement contre la rage, dans de bonnes conditions, se trouvent généralement réfractaires à la contagion, il n'en est pas moins vrai que des cas ont été signalés où le chien a contracté la rage malgré la vaccination.

(*) Séance du 13 mars 1957.

Ces cas sont tout de même relativement rares et notre observation, la première rapportée en A. E. F., revêt par cela même quelque intérêt.

Obs. I. — Il s'agit d'un chien mâle, âgé de 16 mois, croisé de berger allemand et de race locale, vivant à Fort-Lamy et appartenant à M. L....

Ce chien vacciné contre la rage le 17 juin 1954 nous fut amené le 5 février 1955 ; il avait été mordu antérieurement sans que le propriétaire puisse préciser ni la date, ni l'animal mordu.

L'habitation de M. L... se situant en dehors de Fort-Lamy, son chien a pu être mordu soit par un autre chien soit par une hyène.

Le chien présentait depuis 3 jours des signes d'agressivité marquée et avait mordu 3 personnes ; il se jeta sur l'infirmier à la consultation.

A l'examen clinique, aucun signe suspect n'est décelé : pas de température anormale, les muqueuses oculaires sont toutefois congestionnées, la truffe est sèche, et l'agressivité telle que le chien est mis immédiatement en observation pour suspicion de rage.

Sa mort survient le même jour à 15 heures et le cerveau immédiatement prélevé est adressé le 6-2 au matin au laboratoire de Farcha : l'examen anatomo-pathologique montrera des corpuscules de Negri au niveau de la corne d'Ammon le 11-2-1955 et fera la preuve de l'existence de la rage chez l'animal.

Ce chien avait été vacciné le 17-6-1954 avec 40 centicubes de vaccin antirabique de l'Institut Pasteur de Brazzaville (vaccin type Fermi phéniqué à 1/100 renfermant 5 o/o de matière cérébrale, atténué 24 heures à la température du laboratoire de l'ordre de 22° à 25°) en 2 injections de 20 centicubes chacune, faites à 48 heures d'intervalle). *Il était donc dans de bonnes conditions puisque sa primo-vaccination datait de moins d'un an.*

Sa mort par rage n'en est pas moins intervenue 7 mois et 19 jours après cette vaccination alors qu'on pouvait le considérer comme protégé.

Il s'agit par conséquent d'un échec de la vaccination préventive antirabique qui vient prouver une fois de plus qu'un chien vacciné dans de bonnes conditions n'est pas toujours à l'abri d'une infection rabique et qu'il est susceptible, de ce fait, de communiquer la rage aux personnes qu'il viendrait à mordre.

Ainsi se trouve justifiée dans la pratique l'opinion que nous émettions en 1953 (2) et qui veut qu'à l'Institut Pasteur de Brazzaville nous ne fassions aucune différence — pour ce qui concerne les indications du traitement antirabique — entre les personnes mordues par des chiens, ceux-ci fussent-ils vaccinés préventivement ou non.

La vaccination préventive des chiens n'en constitue pas moins une méthode prophylactique efficace contre la diffusion du virus rabique dans notre Fédération.

Alors que la rage animale ne cesse d'étendre son domaine et que sa présence se vérifie chaque année dans des régions jusque-là considérées comme indemnes, il importe que cette vaccination soit intensifiée et précisée pour sa plus grande efficacité.

Dans l'impossibilité où nous nous trouvons à l'heure actuelle d'utiliser du vaccin préparé sur embryon de poulet (souche Fleury), nous estimons que les meilleures modalités pour une vaccination préventive efficace avec un vaccin de tissu nerveux sont celles qu'a fait connaître P. LÉPINE (3) (4).

P. LÉPINE utilise un vaccin phéniqué du type Fermi titrant 5 o/o de matière cérébrale de chien ou de mouton et 1 o/o d'acide phénique, atténué 24 heures à la température du laboratoire et maintenu 5 jours à une température de $+2^{\circ} + 4^{\circ}$ avant son emploi. Il recommande « 2 injections de 10 cm³ pour un chien de 10 kg. et 2 injections de 20 cm³ pour un chien dépassant ce poids, les 2 injections devant être séparées par un intervalle de 10 jours ; et chacune d'elles étant pratiquée en divisant la dose en 2 injections égales opérées en 2 points différents du corps ».

Une injection de rappel de même importance, 10 ou 20 cm³ de vaccin suivant le poids de l'animal, doit être faite tous les 6 mois, dans les mêmes conditions d'inoculation.

Cette méthode a l'avantage de développer une immunité solide lors de la primo-vaccination en raison de l'intervalle de 10 jours qui sépare les 2 injections de vaccin et de maintenir la protection ainsi conférée à un taux élevé par des rappels relativement fréquents.

RÉSUMÉ

Les auteurs rapportent le 1^{er} cas de rage observé au Tchad (A. E. F.) chez un chien vacciné préventivement 7 mois et 19 jours auparavant à l'aide de 2 injections de vaccin antirabique type Fermi de 20 centicubes chacune, faites à 48 heures d'intervalle.

Ils insistent sur la nécessité d'intensifier la vaccination préventive des chiens en A. E. F. suivant les modalités retenues par P. LÉPINE et cela en raison d'une diffusion de plus en plus grande du virus rabique à l'intérieur de la Fédération.

*Institut Pasteur de Brazzaville
et Secteur vétérinaire n° 1 du Tchad à Fort-Lamy.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Arrêté en date du 20-2-1944 paru au *J. O. de l'A. E. F.* le 15-3-1944.
- (2) CECCALDI (J.). — Considérations sur la vaccination antirabique préventive des chiens et indications du traitement chez les personnes mordues par les chiens vaccinés préventivement contre la rage. *Méd. Tropicale*, 1953, 5.

- (3) LÉPINE (P.). — A propos de l'emploi des vaccins phéniqués pour la prévention de la rage chez l'homme et chez les animaux. *Rev. Path. Comp.*, septembre-octobre 1946, 563.
- (4) LEVADITI (C.) et LÉPINE (P.). — Les ultravirus des maladies humaines, 2^e édition. Librairie Maloine, Paris, 1948, Vaccination préventive du chien avant morsure, 436.

ANTI-HISTAMINIQUES ET RÉACTIONS LÉPREUSES

Par A. VALETTE (*)

Depuis l'avènement de la thérapeutique sulfonée dans le traitement de la lèpre, tous les auteurs ont signalé l'apparition, au cours de la cure sulfonée, d'un « état réactionnel » dont l'intensité et la fréquence paraissent être en rapport avec la plus ou moins grande activité du produit utilisé plutôt qu'avec sa toxicité.

C'est ainsi que ces réactions se présentent avec la plus grande fréquence dans le traitement de la lèpre par la diaminodiphénylsulfone, D. D. S. ou sulfone mère.

A vrai dire, ces « réactions léprotiques » ne sont pas l'apanage exclusif des traitements sulfonés, on les rencontrait assez souvent au cours des traitements chaulmoogriques et il arrive même d'en voir en dehors de toute thérapeutique. On les désignait autrefois sous les termes de « poussée bacillémique », « poussée lépreuse aiguë », « fièvre hansénienne ».

Quel que soit son mode de déclenchement, la réaction lépreuse se manifeste par :

- des phénomènes cutanés et muqueux ;
- des phénomènes névritiques et nerveux ;
- des phénomènes généraux.

Ces diverses manifestations pouvant être isolées ou groupées chez le même malade.

Les phénomènes cutanés se caractérisent par l'apparition, au niveau des lésions anciennes, de placards érythémateux plus ou moins surélevés et infiltrés et souvent accompagnés de poussées exsudatives au niveau des lésions muqueuses existantes : conjonctivites, rhinites, etc.

Les phénomènes névritiques sont constitués par l'apparition d'un œdème dur, très douloureux, sur le trajet des nerfs déjà atteints, tandis que le tégument sus-jacent prend une teinte rouge violacée. Enfin, une fièvre élevée avec délire et troubles psychiques, véritable démence lépreuse, peut compléter ce tableau réactionnel.

(*) Séance du 10 avril 1957.

Avec les traitements sulfonés, ces « réactions léprotiques » intenses ont considérablement augmenté de fréquence, à telle enseigne que des pourcentages variant de 60 o/o à 20 o/o ont été cités suivant les auteurs.

Ayant eu à exercer pendant près de 2 ans dans la région côtière du nord de Madagascar, la surveillance d'un village de lépreux comprenant en moyenne 200 malades en traitement par la diaphénylsulfone (disulone thérapiex); nous avons eu l'occasion de constater que malgré une progression thérapeutique très prudente, 40 o/o de nos malades, surtout lépromateux, soumis pour la première fois à cette thérapeutique, présentaient au cours des premières semaines une « réaction lépreuse » plus ou moins intense nécessitant soit l'arrêt de la progression thérapeutique, soit même l'arrêt complet du traitement.

Cette réaction, qui traduit pour la plupart des auteurs l'activité de la D. D. S. vis-à-vis du bacille de Hansen, nous l'avons rencontrée surtout chez nos malades lépromateux fortement bacillifères; elle paraît bien être le résultat de la lyse bacillaire intense et peut, de ce fait, être comparée à une véritable réaction du type « Herxheimer ». On comprend dans ces conditions tout l'intérêt qu'il y a à disposer d'une thérapeutique qui, permettant de contrôler ces réactions, rende possible la poursuite du traitement sulfoné, dont la « réaction lépreuse » n'est qu'un témoignage de l'efficacité.

Dans ce but, de nombreuses thérapeutiques ont été mises à l'étude et préconisées par différents auteurs: l'émétique et le gluconate de calcium I. V., la streptomycine, les antihistaminiques et, tout récemment, l'A. C. T. H. et la cortisone.

N'ayant pas obtenu les résultats recherchés avec l'émétique, le gluconate de calcium I. V. ou la streptomycine, et ne disposant pas, pour des questions de prix de revient, de doses suffisantes d'A. C. T. H. ou de cortisone dont le maniement demande d'ailleurs une surveillance difficile à réaliser dans un village de lépreux, nous avons essayé d'abord le traitement, ensuite la prévention, des « réactions lépreuses » par un antihistaminique de synthèse mis gracieusement à notre disposition par les laboratoires Servier, l'histopyrrodine, ou chlorhydrate de pyrrolidyl-éthyl-phényl-benzylamine commercialisé sous le nom de domistan.

Il s'agit d'un antihistaminique instantané, retard dont l'action se prolonge pendant 12 heures lorsqu'on l'utilise par voie buccale, ce qui permet une administration bi-quotidienne, et qui ne produit pas d'effet hypnotique. Cet antihistaminique a été utilisé au début à titre uniquement curatif chez des malades présentant déjà une « réaction léprotique » cutanée ou nerveuse intense accompagnée le plus souvent de phénomènes généraux, à la dose de 4 comprimés

dragéifiés à 25 mg. par jour, pris 2 par 2 à 12 heures d'intervalle.

Sur 46 malades, dont 39 lépromateux et 7 tuberculoïdes ainsi traités, 43 ont vu les phénomènes cutanés et généraux s'estomper puis disparaître en 4 à 6 jours, sans qu'il soit nécessaire d'interrompre le traitement qui fut seulement maintenu à la dose atteinte au moment de la « réaction lépreuse » pendant une semaine, avant de reprendre la progression sous-antihistaminique qui fut parfaitement tolérée.

Pour trois malades seulement le traitement dut être interrompu. Il s'agissait de lépromateux à la phase 3 présentant des accidents fébriles ou oculaires très importants et qui durent être hospitalisés.

Fait important à signaler : chez tous les malades délirants ou agités, on obtient une sédation à peu près complète du syndrome psychique au bout de 8 à 15 jours de traitement, ce qui n'est pas pour étonner depuis que l'on connaît l'action neuro-sédative de l'histopyrrodine (domistan) sur les manifestations neurotoniques des états agressifs (J. SIGWALD et CL. RAYMONDEAUD).

Devant les résultats thérapeutiques obtenus, nous avons alors essayé cet antihistaminique à titre prophylactique chez un certain nombre de malades qui nous paraissaient plus prédisposés que d'autres à présenter une « réaction lépreuse ».

Il s'agissait exclusivement de malades lépromateux présentant des lésions cutanées en pleine efflorescence et soumis pour la première fois à une thérapeutique sulfonée.

Ces malades recevaient en même temps que le traitement par la D. D. S., dès le premier jour et durant les deux premières semaines, deux comprimés dragéifiés d'histopyrrodine à 25 mg. par jour.

18 de ces malades purent ainsi recevoir un traitement préventif ;

16 ne présentèrent aucune réaction ;

2 montrèrent au huitième jour une assez forte réaction cutanée sans signes généraux.

Il suffit de doubler la dose d'absorption de l'antihistaminique pour assister en une semaine à la disparition de la réaction cutanée, sans qu'il soit nécessaire d'arrêter la progression thérapeutique sulfonée.

C'est pourtant chez de tels malades que nous avons jusqu'alors observé un pourcentage de 50 0/0 de « réactions lépreuses ».

En résumé, il nous a paru intéressant de signaler à l'attention des léprologues l'action du chlorhydrate de pyrrolidyl-éthyl-phényl-benzylamine (domistan) dans le traitement et la prévention de

la « réaction lépreuse » si fréquente au cours des traitements sulfonés.

Ces essais méritent à notre avis d'être poursuivis, non seulement à cause des premiers résultats favorables obtenus, mais aussi à cause de la facilité d'administration du produit et de son faible prix de revient, qui permet son utilisation dans une médecine de masse telle qu'elle se pratique dans les « villages de lépreux ».

Discussion.

M. RIou. — L'action de divers antihistaminiques sur l'évolution des réactions lépreuses a été étudiée à plusieurs reprises avec des résultats qui sont restés très inconstants. Les essais de A. VALETTE avec l'histopyrrodine doivent donc être continués afin de se rendre compte de l'intérêt réel curatif et préventif de ce produit qui serait d'administration facile, notamment en médecine de masse.

LÉPROMINE ULTRASONNÉE ET HÉMAGGLUTINATION

Par HERVÉ FLOCH (*)

Dans une discussion (1) que nous ne pouvons pas poursuivre ici (nous le ferons ailleurs), malgré son intérêt à bien des points de vue, au sujet de lépromines diluées et de lépromines ultrasonnées, R. CHAUSSINAND a cru pouvoir affirmer (argument, dit-il, à l'appui de sa thèse) que : « M. Floch a eu, quelques mois plus tard, la même idée que nous — il s'agit de la préparation de lépromine ultrasonnée — ce qui semble indiquer qu'il considère également l'homogénéité de sa lépromine 1/750 cm³ comme insuffisante » (2).

Or, cette affirmation n'est nullement exacte car, lorsque nous avons demandé à M. GRABAR d'ultrasonner des ampoules de lépromine que nous lui avons adressées, c'était uniquement pour essayer de poursuivre l'étude de l'hémagglutination dans la lèpre.

Cet essai d'hémagglutination, avec comme antigène une lépromine ultrasonnée, fut d'ailleurs annoncé à l'avance : « Nous entendons poursuivre cette étude à l'aide d'une lépromine lysée par les ultra-sons » (3).

..

(*) Séance du 13 mars 1957.

Bull. Soc. Path. Ex., n° 2, 1957.

Nous avons déjà étudié l'hémagglutination dans la lèpre à l'aide de divers antigènes tuberculeux (4). Nos résultats n'avaient pas été remarquables, puisque nous avons conclu ainsi : « Il nous paraît finalement que la réaction de Middlebrook est bien plus rarement positive chez les lépreux indifférenciés (19 0/0) et chez les lépreux tuberculoïdes (27 0/0) que chez les lépromateux (65 0/0). »

Ces pourcentages, en effet, montrent, simplement, que les troubles sérologiques dans la maladie de Hansen sont plus importants chez les lépreux lépromateux, atteints de forme grave de la maladie, que chez les lépreux tuberculoïdes ou indifférenciés, atteints, eux, de formes relativement bénignes de l'affection. Or, c'est là une constatation très banale que l'on fait chaque fois que l'on étudie un test sérologique, plus ou moins quelconque, dans la lèpre ; il en est ainsi, par exemple, de l'inversion du quotient albumineux sérine/globuline signalée par LEFROU et BONNET (5), de la réaction de Takata-Ara (6), de la réaction de Weltmann (6), de la réaction « Universelle » de Kahn (7), de la réaction d'Ogata (8)..., pour nous en tenir à ce que nous avons nous-même constaté en des années d'étude de la sérologie de la lèpre.

En outre, le pourcentage trouvé, de 65 0/0 de positivité chez des lépromateux, est, en somme, faible et montre bien qu'on ne peut attacher une très grande importance à la réaction en question, même si l'on s'en tient à cette forme de lèpre seulement.

Du point de vue hémagglutination à l'aide d'un antigène tuberculeux, nous avons fait d'ailleurs remarquer que la positivité de la réaction dépend assez nettement de l'antigène utilisé : « Ceci confirme simplement, peut-être, que s'il y a des parentés antigéniques indéniables entre le B. H. et le B. K., les analogies entre les extraits bacillaires du B. H. et la tuberculine sont bien plus faibles que celles qui existent entre les extraits bacillaires de chacun de ces germes. En conséquence, lorsque l'on veut comparer entre elles les réactions d'immunité ou d'allergie dans la lèpre et la tuberculose, il paraît fort recommandable (conclusion à laquelle nous avons déjà abouti) d'utiliser deux extraits bacillaires, l'un du B. H., l'autre du B. K., et non l'antigène bacillaire de Mitsuda d'une part, et la tuberculine, d'autre part » (4).

Nous avons, ensuite, voulu employer un antigène spécifiquement lépreux, sans résultats favorables d'ailleurs, puisque nous avons terminé notre note à ce sujet par ces mots : « En conclusion, la réaction d'hémagglutination dans la lèpre à l'aide d'hématies sensibilisées par un antigène lépreux (lépromine) nous a donné des résultats décevants » (3).

C'est alors que nous avons pensé utiliser une lépromine lysée par les ultra-sons. Ce sont, en effet, les antigènes endomicrobiens qui

paraissent les plus intéressants dans la lèpre et dans la lépromine normale; tout le monde l'admet : il n'y a guère de véritables antigènes lépreux solubles.

Nous avons donc demandé à M. GRABAR (Institut Pasteur de Paris), que nous remercions, de nous préparer une lépromine ultrasonnée (trois heures dans l'air : 960 khz et 90 w acoustiques), en partant de celle que nous avons utilisée précédemment, dans la réaction d'héماغglutination, c'est-à-dire une lépromine stérilisée par la chaleur sans addition d'acide phénique et diluée à 1/150 au lieu de 1/20 ; et ceci, rappelons-le, parce que cette dilution à 1/150, dans le cas de l'intradermo-réaction de Mitsuda, n'abaisse pas, par rapport à la lépromine normale à 1/20, le pourcentage de positivité de la réaction, ni même, pratiquement, l'intensité des réactions positives, comme nous y avons insisté à plusieurs reprises (9).

*
* *

Nous avons utilisé cette lépromine ultrasonnée exactement comme nous l'avions fait du même antigène avant traitement par les ultra-sons, mais en nous servant uniquement, cette fois, comme hématies, de globules humains du groupe O.

Nous avons commencé par chercher à sensibiliser ces hématies à l'aide de notre lépromine ultrasonnée.

Dans un tube de Kahn nous avons mélangé en parties égales une suspension d'hématies (lavées 3 fois à l'eau physiologique) à 2 o/o et le surnageant de notre antigène lépreux centrifugé pendant 10 minutes à 2.000 tours-minute. Ce mélange a été étuvé à 37° pendant 1 heure, passé pendant 10 minutes à l'agitateur de Kahn, étuvé une nouvelle heure, puis centrifugé. Le culot globulaire fut lavé deux fois, puis remis en suspension dans un volume d'eau physiologique double de celui de la suspension d'hématies de laquelle on était parti et soumis à une agitation vigoureuse. Nous avons, finalement, obtenu ainsi nos globules rouges supposés sensibilisés, dilués à 1 o/o.

D'un autre côté, chacun des sérums examinés a été dilué au 1/2 dans de l'eau physiologique à 8 o/oo, chauffé à 56° pendant une demi-heure, puis deux fois traité, pendant 20 minutes, avec 1/10 de son volume de purée globulaire, séparée ensuite du sérum par centrifugation.

A partir du sérum à 1/2 furent préparées cinq autres dilutions, et, ainsi, nous obtînmes finalement 6 sérums dilués en progression géométrique et allant de la dilution à 1/2 (1^{er} tube) à la dilution à 1/64 (6^e tube).

De chacune de ces dilutions furent prélevés 3/10 de centimètre

cube auxquels furent ajoutés 0 cm³ 05 (une goutte) des globules rouges sensibilisés à 10/0.

Comme témoins nous avons mis en présence des hématies non sensibilisées et du sérum à 12 ainsi que des hématies sensibilisées et de l'eau physiologique.

Après un séjour d'une heure à 37°, une première lecture de l'agglutination fut faite, puis les tubes furent agités et laissés à la température du laboratoire jusqu'au lendemain (seconde lecture).

Nous avons ainsi testé 20 sérums lépreux (7 « lépromateux », 3 « frontières », 5 « indifférenciés » et 5 « tuberculoïdes ») avec, comme témoins, 6 sérums normaux et 1 sérum syphilitique.

Un seul de nos sept sérums « lépromateux » a été positif jusqu'à la dilution 1/64; la positivité d'un autre n'alla pas au-delà de 1/4; un troisième fut entièrement négatif; les quatre derniers présentaient une zone de positivité (un ou plusieurs tubes) dans les fortes dilutions (1/16, 1/62 et 1/64) alors qu'ils étaient négatifs dans les faibles dilutions (1/2, 1/4 et 1/8).

Sur nos cinq sérums « indifférenciés », deux étaient entièrement négatifs et trois présentaient une agglutination dans un ou plusieurs tubes des grandes dilutions.

Des cinq sérums « tuberculoïdes » un seul fut positif à 1/4; les quatre autres présentaient encore une agglutination plus ou moins étendues dans les fortes dilutions.

Nos trois sérums « frontières » agglutinaient, eux aussi, dans certains au moins des trois derniers tubes.

Mais quatre des six sérums normaux présentaient cette même particularité (les deux autres étaient entièrement négatifs), de même que le sérum syphilitique.

La signification de ces agglutinations aux plus fortes dilutions n'est évidemment aucunement « spécifique », puisque nous les avons trouvées aussi bien avec les sérums normaux qu'avec les sérums lépreux.

Nous avons constaté un fait analogue lorsque nous avons essayé la réaction d'Ogata dans la lèpre : « Dans la série L, agglutination très faible ou nulle dans les premiers tubes et agglutination nette (++++) de la dilution 1.25,6 à la dilution 1291,9. Nous avons pensé, au début de notre travail, qu'il serait peut-être possible de considérer ce type de réponse comme spécifique de la lèpre étant donné que près de 80 0/0 des sérums de nos malades réagissaient de cette façon. Il ne nous a pas été possible de retenir longtemps cette idée car 12 sur 17 sérums normaux examinés (soit 70 0/0 de ces sérums) ont donné le même type de réponse » (8).

Notre conclusion au sujet de l'agglutination par des sérums lépreux d'hématies humaines du groupe O « sensibilisées » à l'aide d'une lépromine ultrasonnée est donc semblable à celle de notre précédent essai à l'aide de la même lépromine mais avant traitement par les ultra-sons : nous n'avons pu ainsi déceler de réaction antigène-anticorps.

*Institut Pasteur de la Guyane Française
et de l'Inini.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) FLOCH (H.). — Sur l'intérêt des lépromines diluées. *Bull. Soc. Path. exot.*, juillet-août 1956, **49**, 4, 57.
- (2) CHAUSSINAND (R.). — Réponse à la note de H. FLOCH concernant l'intérêt des lépromines diluées. *Bull. Soc. Path. exot.*, juillet-août 1956, **49**, 4, 582.
- (3) FLOCH (H.) et ANDRÉ (J.). — Réaction d'hémagglutination dans la lèpre à l'aide d'hématies « sensibilisées » par un antigène lépreux. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 375, septembre 1955.
- (4) FLOCH (H.) et SOHIER (R.). — Sur l'intérêt de la réaction d'hémagglutination à divers antigènes tuberculeux dans la maladie de Hansen. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 272, septembre 1952.
- (5) LEFROU (G.) et BONNET (P.). — L'équilibre protéique du sérum sanguin des lépreux. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1934, **27**, 1, 35.
- (6) FLOCH (H.). — Lèpre. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de la Guyane Française. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 125, avril 1946.
- (7) FLOCH (H.) et SUREAU (P.). — La réaction universelle de Kahn ne donne dans aucune forme de lèpre de réponse spécifique. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 310, décembre 1953.
- (8) FLOCH (H.) et ANDRÉ (J.). — Sérologie de la lèpre : la réaction d'Ogata. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 393, mai 1953.
- (9) FLOCH (H.). — Sur l'intérêt de l'utilisation d'antigènes de Mitsuda dilués. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 316, janvier 1954.

PREMIERS RÉSULTATS CONCERNANT LA CONGÉLATION DE *TOXOPLASMA GONDII*

Par FRANCIS ROGER et ANNIE ROGER (*)

INTRODUCTION

La conservation des souches de Toxoplasme est ordinairement effectuée au Laboratoire par des passages en série effectués dans le péritoine de la souris.

Si l'on utilise pour les passages le liquide d'ascite, de souris ponctionnées le plus tardivement possible mais toujours avant la mort, on se trouve obligé de procéder à des inoculations tous les 4 ou 5 jours.

Si l'on a recours à un broyat de cerveau, la culture du parasite est plus lente après inoculation dans le péritoine et les passages ne s'effectuent qu'au 9-10^e jour.

On peut même espacer davantage les inoculations en conservant pendant 4 à 8 jours les produits virulents à 4°C dans des tubes bouchés en caoutchouc : on arrive ainsi à n'effectuer les passages indispensables à la conservation que tous les 12 à 15 jours.

Cependant, quelle que soit la technique, la conservation d'une souche de Toxoplasme reste une servitude en l'absence de procédés identiques à ceux utilisés pour les Bactéries, les Rickettsies ou les Virus et qui permettent une conservation prolongée des micro-organismes entre les passages; nous voulons parler de la *congélation* et de la *lyophilisation*.

On a donc cherché depuis longtemps à conserver le Toxoplasme par l'un de ces 2 procédés et nous-mêmes avons déjà fait en ce sens de nombreuses tentatives demeurées jusqu'ici infructueuses.

Le problème de la conservation par congélation : la première hypothèse que nous avons envisagée pour expliquer la destruction du parasite au cours des processus de congélation-décongélation a été celle de *l'altération de la membrane limitante du germe*.

Nous nous sommes donc demandé s'il était possible d'éviter ou de diminuer cette altération.

Dans une expérience préliminaire, nous avons eu recours à un test indirect pour étudier l'action de la congélation-décongélation sur des membranes cellulaires.

Nous avons ainsi étudié systématiquement la résistance de glo-

(*) Séance du 10 avril 1957.

bules rouges de mouton en nous basant, pour apprécier l'altération de leur membrane, sur la présence ou l'absence d'hémolyse.

Nous avons pu parvenir aux résultats suivants (4) :

1° Les préparations globulaires ne comportant qu'une part négligeable de liquide de dispersion (G. R. en culot) nous ont donné constamment des résultats défavorables.

2° Lorsque nous avons utilisé un liquide physiologique riche en électrolytes (eau physiologique chlorurée) pour réaliser une bonne dispersion des globules rouges, nous avons obtenu les meilleurs résultats par l'association d'une *congélation lente* et d'une *décongélation rapide*.

3° Avec un liquide de suspension ne comportant qu'une faible part d'électrolytes (liquide isotonique saccharosé) *les inconvénients de la congélation rapide et de la décongélation lente sont considérablement atténués mais l'association congélation lente-décongélation rapide se révèle toujours la meilleure* et conduit ici à des résultats presque parfaits (absence d'hémolyse).

Nous avons alors pensé qu'il pouvait y avoir intérêt à appliquer au Toxoplasme les données acquises pour les globules rouges et donc :

1° à utiliser avec lui l'association d'une congélation lente et d'une décongélation rapide,

2° à employer comme liquide de suspension une solution isotonique saccharosée.

Technique utilisée avec Toxoplasma gondii. — Nous nous sommes adressés à la souche B₁₂ de P. LE GAC et P. GIROUD (2) et nous sommes partis du liquide d'ascite prélevé sur souris au 5^e jour de l'inoculation (Toxo. : +++++).

Nous avons dilué ce liquide d'ascite à parties égales avec le liquide conservateur des Rickettsies de BOVARNICK, MILLER et SNYDER (1) dont l'isotonie est assurée par du saccharose et nous avons réparti la suspension au 1/2 ainsi obtenue en ampoules de 5 cm³ (0 cm³5/ampoule) qui ont été scellées aussitôt.

Nous avons ensuite congelé lentement le contenu des ampoules en déposant ces dernières à — 18° C après les avoir enveloppées dans du coton cardé.

Nous avons conservé les ampoules (après leur séjour initial de 24 heures à — 18°) à — 35° C, avant de procéder à leur contrôle, par groupe de 2 ampoules chaque fois. Pour ces contrôles, nous avons décongelé rapidement le contenu des ampoules par immersion plusieurs fois répétée dans de l'eau à 100° C et en prenant bien soin que la température du verre ne dépasse pas 30° au cours de l'opération.

Aussitôt la décongélation obtenue, nous avons ouvert les ampoules et nous avons inoculé 8 souris avec le mélange du contenu des 2 ampoules (0 cm³ 25/souris i. p.)

Résultats. — Les souris-témoins inoculées aussitôt après sa préparation avec la suspension non congelée nous ont permis d'obtenir une culture très riche en 5 à 6 jours (Toxo. : + + + + +).

Les résultats du contrôle de congélation après les premières 24 heures à — 18° C ont été excellents et les 8 souris sont mortes entre le 10^e et le 12^e jour, avec des Toxoplasmes dans le péritoine (Toxo. : + + + + +).

Après une semaine à — 35° C, les 8 souris inoculées nous ont donné les résultats suivants : 3 sont mortes sans pouvoir être soumises à l'autopsie, 1 a survécu sans que le passage ultérieur ait permis de récupérer la souche mais les 4 autres ont montré au 12-13^e jour des Toxoplasmes dans leur péritoine (Toxo. : + + +).

Après un mois à — 35° C, une seule des souris inoculées est morte au 13^e jour avec des Toxoplasmes dans le péritoine.

Dans les contrôles effectués après le trentième jour, il nous a été impossible de récupérer la souche.

CONCLUSIONS

1° *Le processus utilisé nous a permis de réaliser la congélation du Toxoplasme.* Cependant, une partie seulement des parasites paraît avoir survécu à la congélation-décongélation ainsi qu'en témoigne l'allongement du temps de survie constaté dès le premier contrôle (*), la technique de congélation utilisée est donc encore loin d'être parfaite.

2° *Au cours du stockage à — 35° C, nous avons observé une diminution progressive du nombre des germes vivants (*) et, après le premier mois, tous les contrôles de survie sont demeurés négatifs : le procédé de conservation des suspensions congelées devra donc lui aussi être modifié et il est probable, d'après ce que nous savons d'autres microorganismes, qu'un résultat amélioré pourra être obtenu en abaissant la température de stockage.*

*Service des Rickettsioses de l'Institut Pasteur
(Docteur PAUL GIROUD).*

(*) On sait, en effet, que le test le plus sensible de nocivité pour le toxoplasme est l'allongement du temps de survie (3).

BIBLIOGRAPHIE

1. BOVARNICK (M. R.), MILLER (J. C.), et SNYDER (J. C.). — The influence of certain salts, amino acids, sugars and proteins on the stability of Rickettsiæ. *J. Exper. Med.*, 1950, 59, 509-522.
2. GIROUD (P.), LE GAC (P.), GAILLARD (J. A.) et ROGER (F.). — La Toxoplasmose maladie de l'adulte, existe, soit comme une affection fébrile soit comme une affection exanthématique du type boutonneux. L'inoculation des Toxoplasmes le prouve. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1953, 46, 318-323.
3. ROGER (F.). — Discussion de la note de J. BOGACZ sur l'« Action comparée sur les Toxoplasmes de diverses substances synthétiques et de quelques antibiotiques dont la spiramycine ». *Bull. Soc. Path. exot.*, 1954, 47, 903.
4. ROGER (F.) et ROGER (A.). — Non publié.

Addendum.

Au moment de présenter cette note, nous avons eu connaissance, grâce à l'amabilité du docteur PAUL GIROUD d'un travail de DON EYLES, COLEMAN et CAVANAUGHT (*) antérieur au nôtre. Ces auteurs rapportent aussi des résultats positifs lors des tentatives de congélation du Toxoplasme.

Ils ont utilisé également un processus associé de congélation lente et de décongélation rapide mais ont employé un milieu de suspension contenant 5 o/o de glycérol.

La conservation du parasite a été effective pendant 209 jours en raison des basses températures de stockage (— 80° C).

Nous sommes donc heureux de confirmer les heureux résultats des auteurs américains et de signaler à côté de l'action protectrice de la glycérine celle du saccharose.

Nous pensons que, dans les 2 cas, la conservation du parasite a été rendue possible par une amélioration des conditions imposées aux membranes cellulaires lors des processus associés de congélation-décongélation.

F. ROGER.

(*) Preservation of *Toxoplasma gondii* by Freezing. *J. of Parasitology*, 1956, 42, 408-413.

IMPORTATION DU PALUDISME ET TRAITEMENT IMPOSÉ A L'ENTRÉE DES IMMIGRANTS

Par HÉRVÉ FLOCH (*)

Nous avons déjà étudié la question des traitements suppressifs du paludisme (1) et celle de leur application pratique en Guyane Française (2) où nous utilisons à cette fin un schizonticide (amino-4-quinoléine) associé à un gaméticide (8 amino-quinoléine).

COATNEY (3) a, depuis lors, pensé pouvoir recommander, théoriquement, un traitement antipaludique suppressif par la Pyriméthamine (50 mg) en association avec la même dose de Chloroquine ou de Camoquine que nous utilisons : 500 mg. Il se base, surtout, pour recommander cette association, sur le fait que la Pyriméthamine a un pouvoir antispороgonique (« stérilisation » des gamétocytes) alors qu'elle n'agit aucunement, apparemment, sur la production, la vitalité et la morphologie des gamétocytes (de *P. falciparum*).

De cette action COVELL, COATNEY, FIELD et SINGH (4) parlent comme suit : « Le médicament [la Pyriméthamine] n'exerce pas d'effet apparent sur la production, le nombre et la morphologie des gamétocytes, mais il inhibe la sporogonie ultérieure dans le moustique, ce qui permet d'obtenir une action prophylactique sporonticide. »

Mais une telle action ne peut, aucunement, prétendre être présentée comme un fait nouveau, susceptible de modifier nos possibilités de traitement suppressif.

En effet, on sait que les 8 amino-quinoléines agissent de même, lorsqu'elles sont employées à petites doses : « Rappelons encore qu'on a accordé à la Præquine une activité spéciale dite antispороgonique : des anophèles ne pourraient s'infecter à partir de gamétocytes provenant de malades ayant pris de petites doses de ce médicament. En traitement suppressif il nous a paru logique d'envisager une association Flavoquine-Rodopræquine en prises hebdomadaires (5). »

C'est BARBER et KOMP qui ont montré en 1927, puis en 1928 avec NEWMAN (6) ce mode d'action de la Plasmoquine (= Præquine). De nombreux auteurs l'ont depuis confirmé : JANTZEN, PINTO, BROWN, JERACE et GIOVANNOLI, KIKUTH et SCHONHOFER, CHOPRA et BASU, KRITCHEWSKY et PINES.

(*) Séance du 10 avril 1957.

La dose de 2 cg de Præquine, chez un homme adulte, est certainement active à ce point de vue.

*
* *

Y a-t-il ou non intérêt à substituer la Pyriméthamine, comme le propose COATNEY, aux 8 amino-quinoléines et, plus particulièrement à la Rodopréquine dans le traitement antipaludique suppressif des immigrants tel que nous l'entendons.

Soulignons d'abord que si la Pyriméthamine, à faibles doses, modifie le comportement biologique des gamétocytes de *P. falciparum*, notre 8 amino-quinoléine aux doses que nous utilisons, les font disparaître complètement. C'est là, indiscutablement, un résultat autrement radical que l'action antispороgonique ci-dessus, si intéressante soit-elle ; sans compter, nous l'avons vu, que les 8 amino-quinoléines jouissent, elles aussi, à très faibles doses, de la même action antispороgonique.

En faveur des 8 amino-quinoléines, en association avec les amino-4-quinoléines, en traitement suppressif, nous avons relevé quelques citations de COWELL, COATNEY, FIELD et SINGH :

« *Amino-8-quinoléines* : Fortement efficaces contre les gamétocytes de toutes les espèces de *Plasmodium* responsables du paludisme humain » (nous avons vu, plus haut, que l'action de la Pyriméthamine est bien moins radicale, d'après les mêmes auteurs) ;

« *Amino-8-quinoléines* : Efficaces contre ces formes (formes exo-érythrocytaires primaires) pour *P. vivax* et *P. falciparum*, particulièrement pour ce dernier », alors que : « On pense que la Pyriméthamine peut avoir quelque efficacité contre ces formes, mais on n'a pas encore déterminé le degré de celle-ci » ;

« *Amino-8-quinoléines* : Hautement efficaces (sur les formes exo-érythrocytaires secondaires). On peut obtenir la guérison radicale du paludisme à *P. vivax* si le médicament est administré au cours d'une rechute ou pendant la phase de latence. »

Rappelons, par ailleurs, que la Pyriméthamine a déjà provoqué des résistances de souche de *P. falciparum*. Nul doute que ces cas de résistance n'augmentent à l'avenir. Or, on risquera fort de ne pas savoir d'avance, évidemment (dans le cas des immigrants), si les souches importées sont résistantes ou non.

La Pyriméthamine est lentement éliminée (COATNEY) mais cette longue élimination n'est pas seulement un avantage dans le cas particulier : après l'administration des doses « suppressives » ne peut-elle, elle-même, conduire à des « résistances » nouvelles ?

Or il faut bien reconnaître que le problème de la résistance des souches de *P. falciparum* à la Pyriméthamine a largement dépassé

le stade « théorique ». Au Kenya elle est apparue et s'est étendue rapidement après des traitements de masse (7). En outre cette résistance est même (ce qui augmente ses dangers), semble-t-il, « croisée » avec celle au Proguanil (8).

*
* *

En faveur de la Pyriméthamine en traitement suppressif (en association toujours avec un schizonticide actif) on peut mettre en avant la « toxicité » des 8 amino-quinolénines.

Théoriquement, cette « plus grande toxicité » semble exister. Mais les notions sur les toxicités des produits médicamenteux sont toujours bien relatives et ce qu'il faut savoir, c'est s'il y a ou non risque à en utiliser les *doses thérapeutiques*. Or nous n'avons pu enregistrer aucune observation défavorable, comme nous l'avons déjà signalé, lors de l'application de notre traitement suppressif et, cependant, elle a été faite chez des adultes et enfants de race noire et indonésienne, dont l'état général était médiocre.

C'est le moment de rappeler que la Rodopréquine est un mélange à parties égales de deux 8 amino-quinolénines (Præquine et Rhodoquine). Or il a été démontré, au laboratoire et en clinique, qu'une dose de ce mélange est moins toxique que ne le serait la même dose d'un seul de ces produits, car ils ont des « toxicités » portant sur des cellules embryologiquement différentes (d'origine mésodermique pour la Præquine, d'origine ectodermique pour la Rhodoquine » (9), et ne s'additionnant pas, contrairement à leur activité spécifique thérapeutique.

Notre traitement suppressif a été appliqué sans aucun inconvénient, répétons-le, et de ce fait, la question est, pour nous, réglée, sans plus de discussions.

D'autre part, les doses de Rodopréquine que nous avons utilisées sont un peu plus fortes que celles recommandées jusqu'ici, en général. Encore une fois elles sont cependant très bien supportées et d'autres auteurs en ont utilisé de semblables, tel WALKER qui, en Malaisie, administra à des adultes des prises mensuelles (pendant trois mois) de 60 mg. de Præquine et, à des enfants, d'autres de 30 mg. (10).

Rappelons-le, nous avons encore remarqué que : « Il a d'ailleurs déjà été noté que les 8 amino-quinolénines étaient bien mieux tolérées par doses espacées que par doses quotidiennes répétées ; c'est dans ce dernier cas seulement qu'on a, notamment, constaté, quelquefois, l'apparition, plus particulièrement chez les Noirs, d'une anémie hémolytique » (1).

*
* *

COATNEY propose, avantage réel, une seule prise de 600 mg. d'amino-4-quinoléine avec 50 mg. de Pyriméthamine chez les immigrants à l'arrivée.

Il convient de rappeler ici que, selon nous, le but à atteindre par l'application d'un traitement « suppressif » aux nouveaux arrivants de pays d'endémicité malarique (plus spécialement à *P. falciparum*) est d'empêcher ces arrivants d'infecter des anophèles vecteurs avant que leur « auto-stérilisation » (aidée elle-même par l'action de la thérapeutique « suppressive » à l'arrivée) ne survienne (2).

Nous avons eu, là, à nous attaquer à un problème nouveau et comme nous ne voulions, ni ne pouvions, nous permettre de faux pas, il nous fallut agir à coup sûr, du point de vue résultats.

Partant, à l'origine, nous l'avons dit, d'un traitement suppressif étendu sur trois mois avec prises hebdomadaires ou tous les dix jours nous avons immédiatement été conduit à un traitement plus aisé à mettre en pratique et se limitant à 6 prises hebdomadaires (2).

Ensuite nous avons diminué jusqu'à 4 le nombre de ces prises (1).

Encore s'agissait-il là du nombre « théorique » des prises hebdomadaires successives; mais, en vérité, pour une raison ou pour une autre, certains de nos immigrants en ont pris un moins grand nombre (de une à trois), sans que le résultat d'ensemble ait été modifié.

Ceci n'était, d'ailleurs, pas pour nous étonner puisque nous avons bien précisé que nous ne préconisons plus que par « principe » et pour obtenir une garantie maximum, l'administration des quatre doses hebdomadaires : « Chez, pratiquement, tous les malades, des examens de contrôle furent pratiqués au moins une semaine après la prise médicamenteuse et souvent plusieurs semaines de rang. Chez aucun d'entre eux nous ne retrouvâmes ni de schizontes, ni de gamétocytes de *P. falciparum*. La prise hebdomadaire leur fut, cependant, renouvelée trois fois, en règle générale » (11).

Nul doute, en conséquence, qu'une telle prise unique administrée systématiquement à l'arrivée à tous les immigrants, ne soit suffisante pour nous permettre d'atteindre dans son ensemble le but recherché.

Depuis le dernier trimestre de 1956, d'ailleurs, nous n'administrons, plus systématiquement, qu'une seule prise massive de 600 mg. de Flavoquine ou de Nivaquine + 60 mg. de Rodopréquine, à tout adulte arrivant de pays d'endémicité malarique, ce qui facilite, évidemment, la mise en application de notre traitement suppressif à l'arrivée.

Nous ne doutons finalement pas que l'association amino-4-quinoléine + Rodopréquine ne soit supérieure, aussi bien théoriquement que pratiquement, à l'association amino-4-quinoléine + Pyriméthamine, du point de vue qui nous intéresse ici : celui de l'application d'un traitement « suppressif », en une seule prise, à l'arrivée des immigrants dans un pays qui a besoin de se défendre contre l'importation de *P. falciparum*.

*Institut Pasteur de la Guyane Française
et de l'Inini.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) FLOCH (H.). — Traitement suppressif du paludisme chez les immigrants en Guyane Française. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 397, juin 1956.
- (2) FLOCH (H.). — Traitements prophylactiques et traitements suppressifs du paludisme. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 396, juin 1956.
- (3) COATNEY (G. R.). The Place of drugs in a Programme of International Protection against Malaria. *WHO. Study Group on International Protection against Malaria*. Amsterdam, 4-7 décembre 1956.
- (4) COVELL (G.), COATNEY (G. R.), FIELD (J. W.) and SINGH (J.). — La chimiothérapie du paludisme. *Organisation Mondiale de la Santé. Séries de Monographies*, n° 27, 1956.
- (5) FLOCH (H.). — La lutte antipaludique en Guyane Française. Notre huitième campagne de pulvérisations d'insecticide à effet rémanent dans les habitations. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 404, août 1956, 47.
- (6) BARBER (M. A.), KOMP (W. H.) and NEWMAN (B. N.). — Observations and Experiments in the Panama Division of the United Fruit Co with special. Reference to certain Measures for the Control of Malaria. *United Fruit Co., 17th An. Rep.*, 1928, 34.
- (7) JONES (S. A.). — Resistance of *P. falciparum* and *P. malariae* to pyrimethamine (Daraprim) following mass treatment with the drug. A preliminary note. *E. Afr. Med. J.*, 1954, **31**, 47-49.
- (8) JONES (S. A.). — Experiment to determine if a proguanil resistant strain of *P. falciparum* would respond to large doses of Pyriméthamine. *Brit. Med. J.* 1953, **1**, 977.
- (9) DECOURT (P.). — Etudes sur la toxicité de la Præquine (Plasmochine) et de la Rodopréquine. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, **29**, 3, 328.
- (10) WALKER (A. J.). — Potentialities of monthly Doses of Camoquin (Amodiaquine) and a gametocidal Drug (Primaquin) in Malaria Control. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1955, **49**, 351-355.

- (11) FLOCH (H.). — Le traitement suppressif du paludisme chez les immigrants en Guyane Française. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française et de l'Inini*. Publication n° 392, avril 1956, 127.

SUR UN NOUVEAU MILIEU AU SANG
PERMETTANT LA TRANSMISSION RAPIDE
DU *TRYPANOSOMA CRUZI* (FORMES SANGUINES
ET MÉTACYCLIQUES) EN FORMES LEISHMANIENNES

Par FRANÇOIS PICK (*)

Comme on sait, la première mise en culture du *Trypanosoma cruzi* a été réalisée avec succès par C. CHAGAS (1909) qui s'est servi de la technique de F. G. NOVY et W. J. MACNEAL (1903). Actuellement, sont à notre disposition un nombre appréciable de techniques, toutes excellentes. Pour ne citer que quelques milieux types, nous rappelons le milieu de CHARLES NICOLLE (1908), le milieu à autoclaver de C. MATHIS (1911), le milieu hypotonique glucosé de H. GALLIARD (1929), le milieu dialysé de J. E. TOBIE et CH. W. REES (1948), la mise en culture sur tissus embryonnaires de C. A. KOFOID, T. O. WOOD et E. MCNEIL (1935) et sur l'œuf embryonné de E. ROUBAUD et C. ROMANA (1939).

Mais, ayant un certain rapport avec la note présente, nous devons insister d'une manière plus détaillée sur les observations de C. ROMANA et H. MEYER (2) qui ont continué à travailler sur des tissus embryonnaires de la poule en employant la technique en goutte pendante.

En mettant en expérience des formes trypanosomes issues de cultures sur sang gélosé, ces auteurs ont pu assister, par observation directe, à la pénétration de trypanosomes à l'intérieur de fibroblastes et de myocytes de la culture tissulaire. A l'intérieur du protoplasme cellulaire, les trypanosomes réduisent leur mouvement sauf celui de la membrane ondulante et du flagelle. Vingt heures plus tard, la membrane a disparu et le flagelle s'est très raccourci. En même temps, ils ont aussi observé un raccourcissement du corps de trypanosomes qui devient globuleux. Quelques heures plus tard, le parasite se présente sous la forme de *Leishmania*. Après ce moment, ROMANA et MEYER ne pouvaient plus suivre les trypanosomes par observation directe, à cause de leur disparition dans le protoplasme cellulaire ayant le même indice de réfringence que

(*) Séance du 10 avril 1957.

les parasites. A partir du troisième jour, des parasites, de nouveau transformés en trypanosomes, ont pu être observés.

De notre côté, nous nous sommes proposés d'utiliser comme milieu le sang ayant été ingéré par des Réduvidés hématophages, première ambiance naturelle pour les formes sanguicoles ingérées par ces arthropodes. D'après les recherches de E. DIAS (1), les formes sanguicoles ingérées restent dans l'estomac jusqu'à 8 jours à l'état inchangé tandis qu'on peut observer au moins jusqu'au 73^e jour, la présence de formes *Leishmania*.

Dans un premier temps, nous avons essayé de transposer ce phénomène sur le plan d'un essai *in vitro*. Nous avons laissé exploiter des souris à sang fortement parasité par des Réduvidés hématophages dont le sang ingéré a été prélevé 6 heures après le repas infectant. Après avoir procédé à la confection de préparations à l'état frais, lutées entre lame et lamelle, nous avons pu constater la présence de trypanosomes en mouvement sur place, et 48 heures plus tard la présence de formes *Leishmania*.

Pour nos essais d'ensemencement artificiel du sang ayant été ingéré par des Réduvidés hématophages, nous avons tenu compte de certaines de nos observations sur le plan biologique de ces arthropodes.

Pour exclure une infection accidentelle de Réduvidés par le *T. cruzi* nous avons contrôlé les animaux de laboratoire à exploiter et n'avons mis en expérience que des Réduvidés de notre propre élevage.

En outre, pour assurer l'absence d'une autre infestation parasitaire que celle par *T. cruzi*, nous avons examiné les déjections de Réduvidés par l'intermédiaire de notre dispositif d'alimentation.

Bien qu'il ait été entendu de travailler dans les conditions de stérilité habituelle, ces précautions n'ont pas une grande importance vu le remarquable pouvoir de stabilisation du sang ingéré, même après prélèvement, en face des infections secondaires.

D'autre part, pour faciliter l'observation, nous n'avons utilisé comme animal donneur que le lapin, dont l'hémoglobine ne cristallise pas par voie réduvidique, tout en attendant le temps nécessaire jusqu'à ce que la lyse réduvidique des hématies soit complète.

Dans ce milieu homogène, les trypanosomes ensemencés provenant de la circulation périphérique d'une souris infectée ou d'une culture du type N. N. N. glucosé de notre souche « Ladstätter » ont été parfaitement visibles et il n'y avait rien d'étonnant à constater leur transformation rapide en formes leishmaniennes.

En ce qui concerne le déroulement de la transformation de try-

panosomes en formes leishmaniennes, nos observations sont comparables à celles qui ont été faites par ROMANA et MEYER.

Dans un deuxième temps, nous avons utilisé la même technique par rapport aux formes métacycliques du *T. cruzi* provenant de Réduvidés hématophages domiciliaires (*Triatoma infestans*) infestés par voie naturelle.

Une fois placées dans ce milieu dense, les formes métacycliques montrent un mouvement ondulatoire très énergique mais ne se déplacent que très lentement pour s'arrêter bientôt. Le mouvement ondulatoire énergique continue sur place d'une manière ininterrompue. Au fur et à mesure que les heures de l'observation directe passent, on peut assister à un déplacement de la masse protoplasmique vers le pôle postérieur du trypanosome qui donne alors l'impression d'un corps globulaire avec une prolongation encore très longue et très mince. Cette partie effilée du corps terminée encore par le flagelle, tout en se raccourcissant de plus en plus, montre toujours un mouvement ondulatoire très prononcé. Le raccourcissement de la partie effilée du corps du trypanosome a finalement atteint un tel degré que la partie globulaire n'est terminée que par un petit prolongement en forme d'une queue toujours en mouvement. Ce reste de l'extension longitudinale de l'ancien trypanosome disparaît et le globulaire s'arrondit complètement ou reste légèrement ovalaire.

Ce processus de transformation se déroule, en moyenne, en 24 heures environ.

Les formes globulaires, prélevées 48 heures après leur formation ont été colorées par la méthode panoptique montrant les caractéristiques de formes leishmaniennes du *T. cruzi*.

Nous envisageons la continuation de ces expériences pour connaître le sort de formes leishmaniennes issues de formes métacycliques du *T. cruzi* ainsi que l'action de différents corps additionnés par voie biologique à ce milieu à sang facile à obtenir.

Nous reproduisons quelques microphotographies qui montrent des phases de la transformation de formes métacycliques en formes leishmaniennes.

*Institut d'Hygiène, Faculté de Médecine,
Montevideo.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) DIAS (E.). — Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1934, 28, 1-110.
- (2) ROMANA (C.) et MEYER (H.). — Estudo do ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* em cultura de tecidos de embrião de galinha. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1942, 37, 19-27.

SUR UN DISPOSITIF D'ALIMENTATION
DE RÉDUVIDÉS HÉMATOPHAGES
POUR LA RECHERCHE INDIRECTE
DE FORMES MÉTACYCLIQUES DU *TRYPANOSOMA CRUZI*

Par FRANÇOIS PICK (*)

EY

La recherche de formes métacycliques du *Trypanosoma cruzi*, pour procéder par exemple à l'exécution de la technique de xéno-diagnostic de E. BRUMPT (1914), est simple. Il suffit de découper avec un coup de ciseaux, l'abdomen de Réduvidés à la hauteur de l'ampoule rectale pour faire sortir les déjections contenant les formes métacycliques.

La simple pression, exercée sur l'abdomen de ces arthropodes reste en général inopérante.

L'introduction dans l'ampoule rectale, d'une pipette effilée a pour effet l'aspiration des déjections de Réduvidés à examiner mais cette technique tout à fait satisfaisante comprend le risque d'une perforation de l'intestin.

C. PEREIRA (1) a proposé une technique ingénieuse aussi par sa simplicité. Il conseille de placer chaque insecte dans une boîte de Petri stérile, dont le fond porte, collé, un petit récipient garni d'eau. Le couvercle est garni de papier-filtre blanc. A la fin du repas, on dépose l'insecte gorgé sur le papier; quand les pattes sont bien accrochées, on retourne le couvercle sur le fond de la boîte. L'animal reste accroché le dos en bas et, à cause de son poids, ne se meut que lentement. Les déjections tombent sur le fond de la boîte par taches isolées, qu'on peut étudier, inoculer, etc.

En construisant notre dispositif d'alimentation, nous nous sommes inspiré de la conception de PEREIRA. Ce dispositif se présente de la façon suivante : un entonnoir coupé, d'une hauteur de 10 cm., dont les ouvertures respectives ont un diamètre de 3 et de 7 cm. 5, contient dans son intérieur un revêtement sur lequel les Réduvidés peuvent s'accrocher solidement. L'entonnoir renversé est fermé, au niveau de la petite ouverture par un tulle à mailles fines permettant la pénétration des stylets de Réduvidés. La grande ouverture est entourée d'un anneau en verre qui peut être remplacé par le couvercle d'une boîte de Petri adapté à ce but. Les Réduvidés dont les déjections sont à examiner, sont alors placés dans l'entonnoir et le dispositif est fermé par sa collocation sur une demi-boîte de Petri.

(*) Séance du 10 avril 1957.

Aux Réduvidés qui ne peuvent pas sortir de l'intérieur de l'entonnoir, le repas sanguin est offert de telle manière qu'ils sont obligés d'attaquer la tête en haut.

Les animaux à exploiter, sur un dispositif d'après H. FLOCH offrent leur ventre aux Réduvidés piquant d'en bas.

Le repas sanguin entraîne l'émission de déjections qui tombent sur le fond de la boîte de Petri. Les taches sont alors couvertes de lamelles pour la recherche microscopique à fort grossissement.

Cette technique nous a rendu service par exemple à la rencontre d'une nouvelle espèce où nous étions obligé de chercher les formes métacycliques. Nous avons aussi utilisé ce dispositif pour l'examen de lots entiers de Réduvidés domiciliaires pour déterminer en principe la présence d'une infestation à *T. cruzi*.

Le dispositif a l'avantage de prévenir tout accident de laboratoire.

*Institut d'Hygiène, Faculté de Médecine,
Montevideo, Uruguay.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) PEREIRA (C.). — *Vol. jubilaire Yoshida, Osaka nat. hist. soc.*, 1939, 2, 365 (Cité d'après M. LANGERON, *Précis de Microscopie*, Masson et Cie éd., 1949 843).

LES SARCOSPORIDIOSES AU VIETNAM

Par P. DESTOMBES (*)

Les sarcosporidioses animales semblent fréquentes en Indochine bien que rarement reconnues. Il faut des circonstances épidémiologiques spéciales pour que des recherches soient entreprises sur la musculature des animaux et que l'affection soit ainsi dépistée. C'est bien ce que notaient déjà en 1923 G. LE LOUET et L. BROUDIN (7) : « La sarcosporidiose du porc est en Indochine une banalité dont il est surprenant qu'il soit tenu si peu compte. »

D'autre part la sarcosporidiose du bœuf avait été également signalée par E. HOUDEMER (6) en 1925. Son catalogue des parasitoses animales mentionne le *Sarcocystis babali* sans d'ailleurs donner d'autre détail.

Notre première occasion d'étudier cette parasitose est due à M. CHARY, vétérinaire Capitaine à Saïgon, qui, recherchant cette

(*) Séance du 10 avril 1957.

parasitose chez le bœuf, nous avait adressé au laboratoire d'Anatomie pathologique de l'Institut Pasteur des fragments musculaires parasités. Ultérieurement, à la suite d'une petite épidémie de trichinose humaine, signalée en 1953 par H. COLLOMB et M. ARMENGAUD (3) et par J. FOURNIER dans le rapport annuel de l'Institut Pasteur (4), nous avons recherché les réservoirs animaux éventuels de trichinose. Ces recherches furent négatives en ce qui concerne cette helminthiase, mais c'est ainsi que la sarcosporidiose du porc a été retrouvée et que celle du cerf a pu être mise en évidence, à notre connaissance pour la première fois.

Soulignons que cette parasitose n'a jamais été observée chez les animaux de laboratoire (lapins, cobayes et souris) de notre élevage de l'Institut Pasteur à Saigon.

*
* *

Nous n'insisterons pas sur les caractères de cette protozoose. Elle est bien connue et a été parfaitement exposée récemment dans le *Traité de Zoologie* de M. le Professeur GRASSÉ (5). Nous voudrions ici, marquer les différences de comportement de l'hôte vis-à-vis des parasites : les muscles de nombreux mammifères semblent parfaitement tolérer leur parasitisme ; au contraire, le porc réagit constamment et violemment à la présence de kystes de *Sarcocystis*. Les photomicrographies en couleur et en noir que nous vous présentons et dues à M. MANIGAULT, Chef du service photographique de l'Institut Pasteur, que nous remercions, illustrent ces modes variables de réaction à l'infestation parasitaire.

*
* *

C'est en 1843 que MIESCHER observa le premier les *Sarcocystis* dans les fibres musculaires de la souris. Depuis, ces parasites ont été retrouvés chez la plupart des mammifères, des oiseaux et des reptiles. Chaque espèce a donné lieu à description détaillée d'un parasite dont on s'est efforcé de préciser des caractères spéciaux. ALEXEIEFF (1) pensait qu'il n'y a en réalité qu'une seule espèce : *Sarcocystis miescheriana* Kuhn, 1865. Mais il existe de telles différences dans la taille et la morphologie du kyste selon l'espèce animale, les schizozoïtes eux-mêmes restant apparemment identiques, que cette unicité n'est plus admise. L'étude de la cuticule du kyste, dotée ou non de cytophanères si bien décrites par E. CHATTON et M. AVEL (2) apporte d'autres éléments de diagnostic.

Malgré un matériel toujours facilement disponible — 100 o/o des moutons sont parasités — il persiste beaucoup d'inconnues dans la

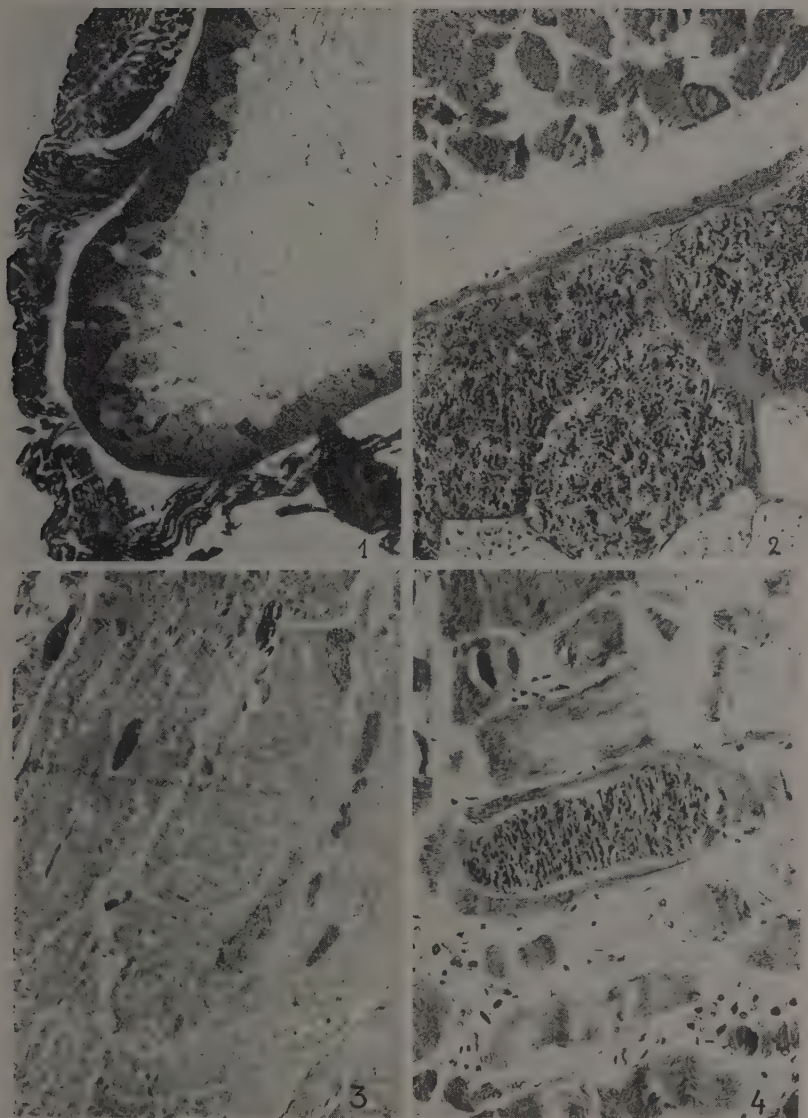
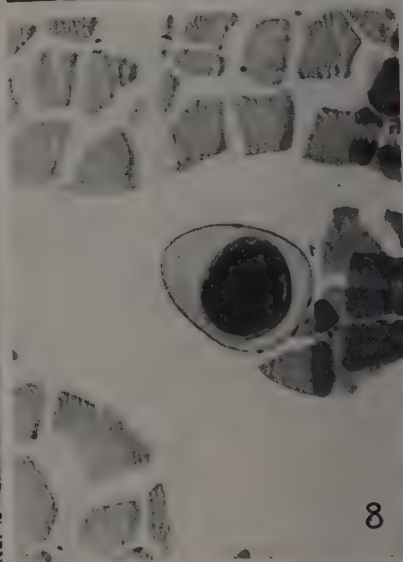
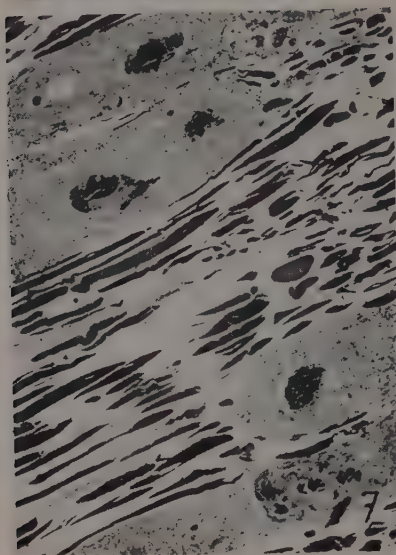
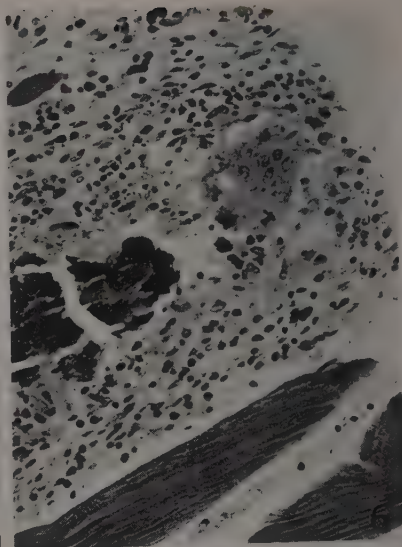
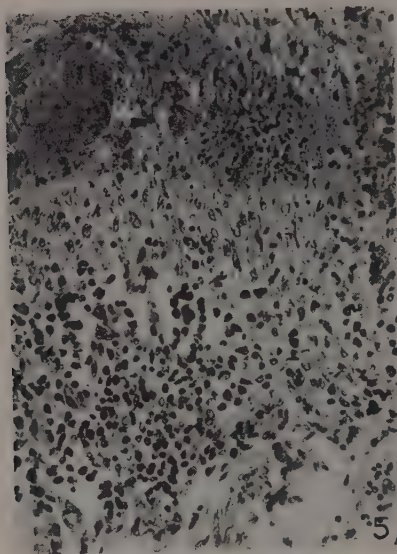


Fig. 1. — *Sarcosporidiose du bœuf*. Vue générale du kyste intramusculaire.
Coupe X. 483. Obj. 5-Oc. 6.

Fig. 2. — *Idem*. Paroi du kyste. Obj. 23-Oc. 6.

Fig. 3. — *Sarcosporidiose du porc*. Vue générale des lésions : kystes
et réaction inflammatoire interfasciculaire. Coupe X. 482. Même grossissement que figure 1.

Fig. 4. — *Idem*. Kyste parasitaire. Même grossissement que figure 2. Coupe X. 485.



- Fig. 5. — *Sarcosporidiose du porc*. Nécrose du kyste et réaction granulomateuse périphérique. Obj. 23-Oct. 6. Coupe X. 485.
- Fig. 6. — *Idem*. Imprégnation calcaire de la nécrose. Réaction histiocyttaire et giganto-cellulaire de résorption. Même grossissement. Coupe X. 484.
- Fig. 7. — *Idem*. Organisation calcaire des kystes nécrosés et nodules histiocytaires périphériques. Obj. 5-Oct. 6. Coupe X. 484.
- Fig. 8. — *Sarcosporidiose du cerf*. Petit kyste au sein d'une fibre musculaire. Obj. 23-Oct. 6. Coupe X. 487.

biologie des *Sarcocystis*. Le cycle du parasite dans l'organisme en particulier demeure mal connu.

*
* *

La sarcosporidiose du bœuf n'offre rien de spécial au point de vue morphologique (fig. 1-2). Il s'agit de kystes intramusculaires dont la structure est superposable à ceux du mouton (*Sarcocystis tenella*); très grande taille du kyste à structure alvéolaire, les schizozoïtes étant extrêmement abondants dans les alvéoles périphériques et se raréfiant au centre. Il n'y a aucune réaction inflammatoire dans le muscle parasité (cf. X. 483).

Le cerf de la région de Djiring (Centre-Vietnam) ne semble pas jusqu'ici avoir été signalé comme parasité. Nous avons pu reconnaître dans les muscles de la cuisse d'une espèce non précisée (*) une sarcosporidiose typique (fig. 8); les kystes n'ont pas la grande taille constatée chez le bœuf ou le mouton mais rappellent ceux de la souris ou du porc sans cependant leur être identiques. A la différence de ce dernier il n'existe pas de réaction inflammatoire périkystique (cf. X. 487).

C'est chez le porc que la sarcosporidiose donne lieu aux observations histopathologiques les plus intéressantes. Il existe chez cet animal une réaction tissulaire intramusculaire qui aboutit macroscopiquement à la sarcosporidiose dite sèche. Le kyste sarcosporidien du porc se développe au sein de la fibre musculaire, grandit mais reste toujours uniloculaire, abritant des schizozoïtes étroitement comprimés. Il n'atteint jamais plus d'un millimètre de longueur car, constamment, des phénomènes de nécrose et de lyse parasitaire interviennent, au moins dans le matériel étudié (X. 481, 482, 484, 485, 486). Ce n'est d'ailleurs là qu'un cas particulier du mode habituel de réaction du muscle du porc aux divers parasites, cysticerque et trichine en particulier, et plus généralement encore à tout parasite dans un tissu à condition qu'il soit mort.

A côté de parasites non altérés (fig. 4) et qui n'entraînent aucune réaction cellulaire de voisinage, on observe dans le même muscle des plages interfasciculaires d'infiltration cellulaire intense autour de kystes entrés en nécrose (fig. 3). Celle-ci est du type grumeleux et éosinophile, semée de nombreux débris nucléaires pycnotiques. Elle est auréolée d'une intense réaction inflammatoire granulomateuse qui refoule en dehors les fibres musculaires voisines (fig. 5). Les cellules sont polymorphes, histiocytes, plasmocytes basophiles

(*) Les principales espèces de Cervidés d'Indochine sont : *Cervus aristotelis*, *Sika pseudaxis*, *Panolia eldi*, *Cervus porcinus annamensis*, *Cervus muntjac* (D'après H. DE MONESTROL (8)).

et éosinophiles dominant. Rapidement apparaît au contact de la nécrose une réaction histiocytaire palissadique avec déjà quelques cellules géantes alors que les plasmocytes et éosinophiles se raréfient. La nécrose s'imprègne de calcaire (fig. 6), d'abord en petits granules qui s'agglomèrent et qui forment finalement une masse amorphe occupant la place du kyste dégénéré. Les macrophages plurinucléés sont fréquents à son contact. Le muscle apparaît alors farci de petits nodules calcaires auréolés d'un granulome de résorption et d'une sclérose périnodulaire. Finalement on aboutit à une myosite fibro-calcaire post-parasitaire (fig. 7).

L'évolution des kystes passe donc par trois phases successives :

- I. Parasites vivants sans réaction,
- II. Nécrose des kystes et granulome voisin,
- III. Organisation calcaire.

Ces divers stades peuvent être observés simultanément mais il y a toujours prédominance d'une phase sur une autre. L'aspect histologique de nos cas peut se résumer dans le tableau suivant, le nombre de croix indiquant l'intensité de la réaction.

	I	II	III
X. 48 ₁	++	+	+
X. 48 ₂	+++	++	±
X. 48 ₄	±	+	+++
X. 48 ₅	+++	++	o
X. 48 ₆	±	+	+

L'importance relative de chacun de ces stades apporte donc des notions sur l'ancienneté et sur l'intensité de l'infestation parasitaire.

*
* *

C'est ce caractère inhabituel de faculté d'élimination des *Sarcocystis*, habituellement bien toléré par les animaux, qui nous a frappé chez le porc. Il ne semble pas tenir au parasite lui-même qui semble bien proche des autres *Sarcocystis*. Imprégnations argentiques et colorations de Hotchkiss-MacManus ne nous ont rien révélé de spécial dans sa morphologie. C'est donc au porc lui-même qu'est dû ce pouvoir de réaction. Peut-être des recherches sérologiques permettraient-elles de déceler des anticorps spécifiques.

En conclusion : Les Sarcosporidioses existent bien au Vietnam et nous les avons observées chez le bœuf, le cerf et le porc. Pour le cerf c'est à notre connaissance la première observation de ce parasite que nous proposons d'appeler *Sarcocystis cervi* nov. sp. car il diffère des autres formes observées et décrites dans les traités.

En ce qui concerne le porc la réaction inflammatoire et l'existence d'un granulome de résorption à corps étranger calcifié nous semblent bien spéciales à cet animal et attribuables plus à l'hôte qu'à la nature du parasite.

*Institut Pasteur, Paris-Saigon,
Laboratoires d'Anatomie pathologique.*

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

1. ALEXEIEFF (A.). — Recherches sur la sarcosporidiose. *Arch. Zool. exp. et gén.*, 1913, 51, 521.
2. CHATTON (E.) et AVEL (M.). — Sur la sarcosporidiose du gecko et ses cytophanères. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, 181.
3. COLLOMB (H.) et ARMENGAUD (M.). — Un curieux cas de « myopathie » fébrile. *Rev. Méd. Chir. des F. A. E. O.*, 1953, 2, 3, II, feuilles roses.
4. FOURNIER (J.). — Trichinose. *Rap. annuel. Inst. Past. Saigon*, 1953.
5. GRASSÉ (P. P.). — *Traité de Zoologie*, 1953, 1, 2, 907.
6. HOUDEMER (E.). — Parasites des animaux domestiques ou sauvages au Tonkin. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1925, 18, 343.
7. LE LOUET (G.) et BROUDIN (L.). — Parasites habituels des muscles du porc. *Bull. Soc. Méd. Chir. Indochine.*, 1923, 404.
8. MONESTROL (H. DE). — Chasses et faunes d'Indochine. Saigon, Portail éd., 1952, 1 vol.

SUR QUELQUES ASPECTS MORPHOLOGIQUES DE SARCOSPORIDIÉS DE DIVERS MAMMIFÈRES

Par R. DESCHIENS, J.-C. LEVADITI et L. LAMY (*)

En France les cas de sarcosporidiose de Mammifères arrivent, à notre connaissance, de deux façons différentes : soit dans les abattoirs par les vétérinaires de l'inspection des viandes, soit au laboratoire à l'occasion de contrôles effectués sur les animaux en expérience. *Sarcocystis tenella*, *S. muris* et *S. cuniculi* sont les trois espèces que nous avons observées et que quelques photomicrographies reproduisent dans cette note.

Sarcosporidiose observée dans les abattoirs.

Sarcocystis tenella. — C'est à l'examen de l'œsophage des moutons que l'on rencontre les nodules kystiques blanchâtres caractéristiques qui boursoufflent les fibres musculaires de surface. Leur

(*) Séance du 10 avril 1957.

fréquence est considérable et c'est un des modes d'obtention facile de *Sarcosporidies* pour en faire des démonstrations d'enseignement.

Sans qu'on en ait l'explication certaine, les *schizozoïtes* se rencontrent chez l'hôte en dehors des kystes, dans les muscles et dans le sang.

La morphologie des schizozoïtes (fig. 1) et des kystes (fig. 2) est bien connue, constatée et décrite par de nombreux auteurs, aussi, cette espèce n'est-elle représentée ici que pour confronter son identité avec celles rencontrées au Viet-Nam chez le bœuf et décrites dans une note présentée par notre collègue P. DESTOMBES. Même absence de *cytophanères* en dehors de la capsule du kyste dont la paroi, au fort grossissement, prend un aspect spongieux avec des ébauches de cloisons intérieures, restes des logettes maintenant vides qui contenaient les *cytomères*.

Sarcosporidiosis observées au laboratoire.

Le second mode de constatation de la sarcosporidiose est moins fréquent. On l'observe au laboratoire, au hasard d'expériences dans les muscles de la souris et du lapin.

En examinant au microscope des organes d'animaux en expérience, nous n'avons jamais rencontré de sarcosporidies chez le cobaye, le rat, le mérion, le hamster, sur plus de deux mille contrôles effectués dans ces quatre dernières années.

Sarcocystis muris. — Cette espèce s'observe au cours d'autopsies de souris ; les muscles sont pâles et comme transformés en longs filaments blanchâtres par les kystes. La sarcosporidiose de la souris nous paraît en France, assez rare. Si l'on songe au nombre considérable d'animaux utilisés au laboratoire et à l'évidence de l'infestation de cet animal, le fait qu'à nous trois nous ne l'ayons rencontrée que six fois en prouve la rareté.

Les figures 3 et 4 reproduisent à deux grossissements différents de nombreux kystes au stade terminal. Ils sont très volumineux et entièrement occupés par les parasites libres, sans intervalle clair ; ils sont dépourvus de zone génératrice. La membrane extérieure du kyste, régulière, est d'environ 5 μ d'épaisseur, homogène, réfringente et légèrement hémateiphile à l'hémalun-éosine-safran. Sur sa face extérieure, absence totale de cytophanères ; elle n'est entourée que de restes de fibres musculaires réduites à l'état d'enveloppe, sans sarcoplasme, mais dont les noyaux sont encore visibles. Les fibres musculaires voisines sont sans altération notable autre qu'une hypotrophie qui les rend plus évidentes ; leur striation est conservée ; il n'existe aucune réaction inflammatoire interstitielle.

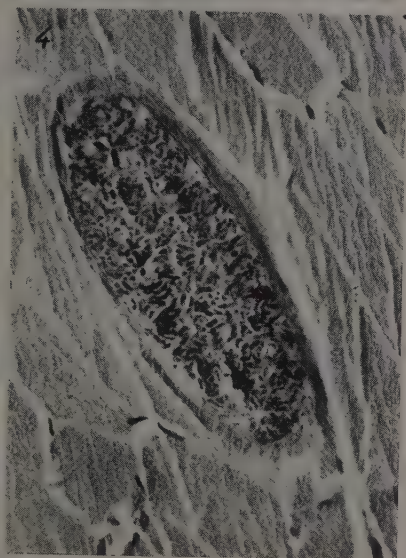
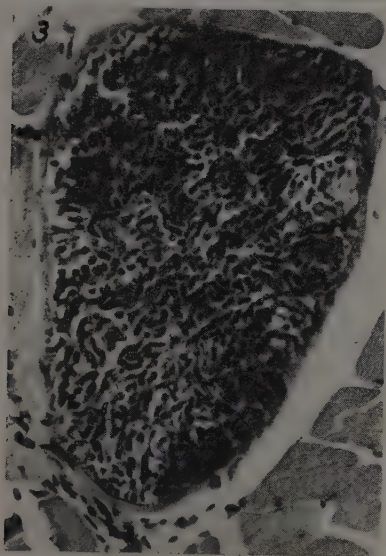
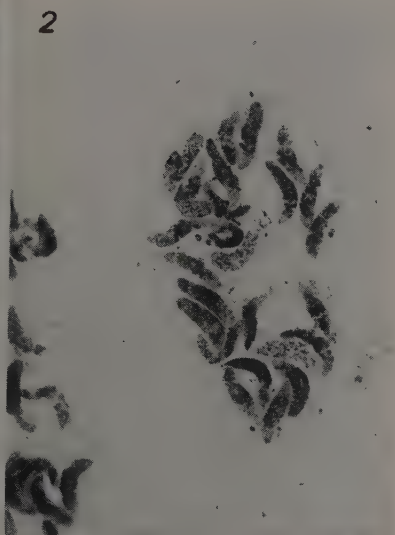
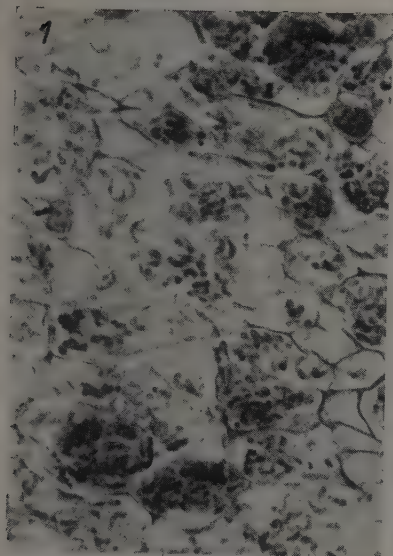


Fig. 1. — *Sarcocystis tenella*. Coupe de kyste dans le tissu œsophagien du Mouton. Partie centrale correspondant aux cytomères avec nombreux schizontes (Gr. 520 $\times$).

Fig. 2. — *S. tenella*. Schizontes en frottis coloré au May-Grünwald-Giemsa (Gr. 520 $\times$).

Fig. 3. — *Sarcocystis muris*. Coupe de muscle de Souris avec un gros kyste renfermant de nombreux schizontes (Gr. 520 $\times$).

Fig. 4. — *Sarcocystis cuniculi*. Coupe de muscle de Lapin. Kyste avec cytophanères inclinés et ondulés (Gr. 520 $\times$).

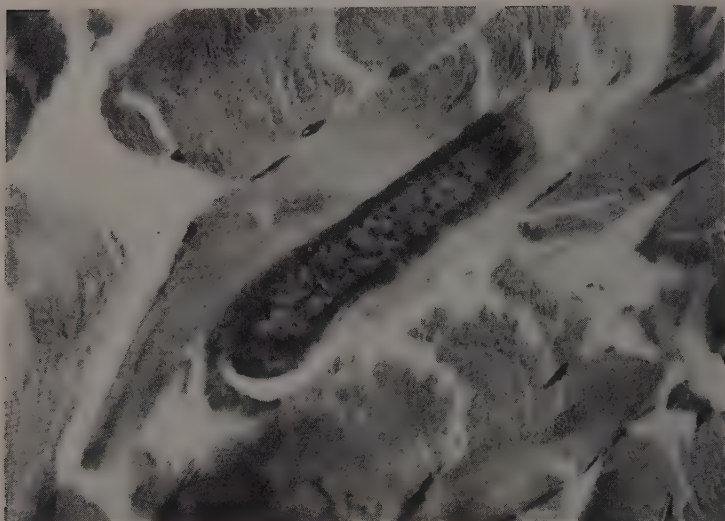


Fig. 5. — *S. cuniculi*. Coupe de muscle de Lapin, kyste jeune avec cellules en mosaïque (Gr. 520 $\times$).

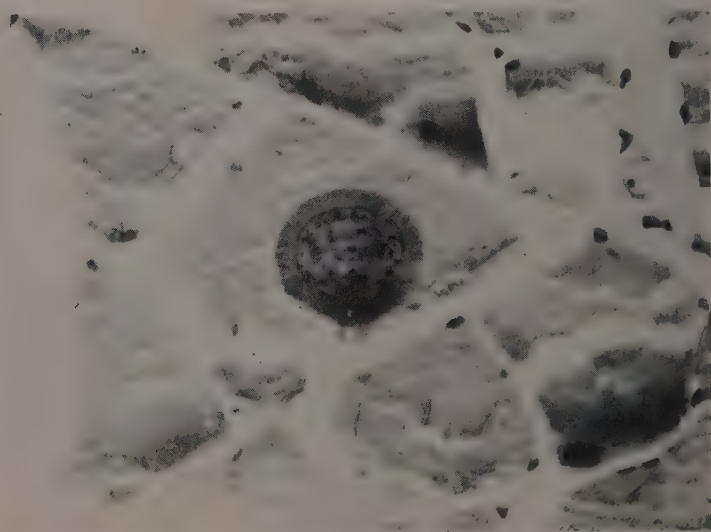


Fig. 6. — *S. cuniculi*. Même Lapin. Coupe circulaire d'un kyste très jeune. Cytomères primitifs. Cytophanes rectilignes, perpendiculaires à la membrane (Gr. 520 $\times$).

Sarcocystis cuniculi (Brumpt 1913).

L'infestation du lapin par cette sarcosporidie décrite également par CRAWLEY en 1914 sous le nom de *S. leporum*, est beaucoup moins évidente que celle de la souris ou du mouton. C'est seulement au cours de contrôles histologiques de tissu musculaire que l'on rencontre les kystes caractéristiques de cette infestation.

Pendant ces 6 derniers mois nous avons observé à deux reprises cette sarcosporidie chez des animaux de provenance totalement différente.

Le premier lapin (Examen X. 62) avait reçu par voie sous-cutanée, à l'Institut Pasteur de Garches, dans le service de notre collègue P. RAYNAUD, une anatoxine, mise en suspension dans un excipient destiné à renforcer le taux d'anticorps spécifiques. C'est dans les muscles latéro-vertébraux et chez un seul des huit lapins examinés que nous avons rencontré quelques kystes ovalaires coupés transversalement ou obliquement, riches en schizozoïtes dirigés en tous sens et parfaitement visibles aux diverses colorations classiques (fig. 5). La paroi est constituée d'une capsule très mince sans affinité tinctoriale spéciale; entourée à l'extérieur d'une zone d'une vingtaine de microns d'épaisseur et constituée d'un fin chevelu dont l'implantation est perpendiculaire à la surface de la membrane. Ces cytophanères prennent des inclinaisons variées en s'éloignant de leur base. Un mince espace clair irrégulier les sépare des fibres musculaires voisines. Fait important, les directions générales de ces deux sortes de fibrilles musculaires ou parasitaires, ne sont pas dans le prolongement l'une de l'autre. Ceci confirme l'interprétation donnée à cet aspect de cils, qui entourent les kystes et qui ont été dénommés cytophanères par CHATTON et AVEL en 1923.

Le second lapin (Examen X. 251) avait reçu par voie musculaire un antibiotique en suspension dans un nouvel excipient, et, sur douze lapins étudiés, les coupes histologiques des muscles juxta-vertébraux d'un seul d'entre eux contenaient une demi-douzaine de formations kystiques, soit parfaitement circulaires, soit ovalaires. Cet aspect ne répond pas forcément aux dimensions réelles de ces formations parasitaires, car, pour l'étude histologique, les sections sont toujours faites perpendiculairement à la fibre musculaire striée. Nous ignorons donc totalement la longueur réelle de ces kystes; mais elle dépasse certainement les deux ou trois millimètres que réalise l'épaisseur d'un bloc (fig. 6). L'un des kystes plus étroit et plus tubulaire que les précédents paraît avoir une structure intérieure plus jeune. Les éléments constitutifs qui ne sont, en effet, qu'au stade de cytomères, sont jointifs; on reconnaît leurs limites cellulaires en forme de mosaïque et les formations nucléaires

très basophiles. La paroi extérieure est violacée, hémateiphile et finement striée. Si les cytophanères semblent se continuer en certains points avec les fibrilles musculaires au contact desquelles ils se trouvent, ce n'est qu'une impression ; ils sont plus violacés, plus hémateiphiles.

Un second kyste est pratiquement circulaire et représente certainement un stade très jeune (fig. 7). Le diamètre extérieur est environ de 60 μ ; le centre, mûriforme, contient de nombreux points colorés par l'hématéine et qui sont des noyaux des cytophanères dont on ne distingue pas les limites cellulaires. La membrane du kyste est très mince, mais ici les cytophanères sont parfaitement individualisés, tous de même longueur, tous rectilignes et perpendiculaires à la surface d'implantation ; colorés en violet par l'hématéine, ils tranchent sur les fibrilles musculaires voisines et celles-ci sont intactes sans réaction dégénérative ni infiltration cellulaire.

Dans les documentations iconographiques de bibliographie et dans les formes observées au Viet-Nam par P. DESTOMBES (1), on ne retrouve pas la description d'éléments aussi jeunes et dans lesquels les cytophanères sont parfaitement nets, rectilignes et serrés. Il convient de noter que les différences morphologiques constatées, compte tenu de l'âge des parasites, et particulièrement celles qui concernent les cytophanères peuvent être en rapport avec les aptitudes réactionnelles de l'hôte par rapport au parasite. On pourrait ainsi se trouver en présence d'un nombre limité d'espèces parasites qui, en fonction de l'hôte, donneraient des réactions xéno-parasitaires modifiant la morphologie (complexe xéno-parasitaire de HARANT).

CÔNCLUSION

A propos des trois espèces de *Sarcosporidies* généralement observées en France et de leur confrontation avec des espèces observées au Viet-Nam, il nous paraît intéressant d'insister sur les différences morphologiques qui séparent *Sarcocystis tenella* et *Sarcocystis muris*, d'une part, toutes deux dépourvues de cytophanères, et *Sarcocystis cuniculi* qui en est pourvue, d'autre part.

La présence et l'absence de cytophanères nous semblent devoir intervenir parmi des éléments d'identification des divers types ou des différentes espèces de *Sarcocystis*.

BIBLIOGRAPHIE

1. DESTOMBES (P.). — Sur les sarcosporidioses animales au Viet-Nam. Ce *Bulletin*, p. 221-225.

SUR LA PERPÉTUATION DES ÉLEVAGES DES MOLLUSQUES VECTEURS DES BILHARZIOSES A L'OBSCURITÉ

Par R. DESCHIENS (*)

On sait que, dans la nature, un certain degré de luminosité correspond aux gîtes recherchés par les mollusques vecteurs des bilharzioses (*Planorbis*, *Bulinus*, *Physopsis*, *Oncomelania*), cette luminosité étant variable, d'ailleurs, en fonction des genres et des espèces.

La lumière recherchée par les mollusques est en général une lumière atténuée.

Dans les expériences de laboratoire, des variations brusques et intenses de lumière, une excitation lumineuse violente provoquent une rétraction des mollusques dans leur coquille, une luminosité légère et prolongée attire les animaux indépendamment du réchauffement et des conséquences sur le climax (déplacements et aliments) que peut susciter le phénomène. Les téguments minces et les écrans pigmentaires apparaissent, en effet, comme insuffisants pour les protéger contre des excitations lumineuses, fortes et directes; ceci explique dans une certaine mesure leur photophobie relative et leur activité électivement crépusculaire et nocturne. BARLOW (1937) (1), ZAKARIA (1955) (2), J. M. WATSON (1956) (3), ont en particulier observé au laboratoire que *B. truncatus* (*B. contortus*) s'éloignait aussi bien de la lumière intense que de l'obscurité.

Si l'insolation est dans les conditions naturelles un facteur intervenant dans la biologie et dans l'habitat des mollusques vecteurs, il semble surtout que ce soit de façon indirecte en assurant le réchauffement du biotope et la croissance de la flore et de la faune qui procurent aux animaux des aliments appropriés. Cependant, il n'est pas exclu qu'une irradiation minima et périodique agissant sur les glandes endocrines et sexuelles soit nécessaire aux mollusques sous revue.

Nous avons montré, avec J. ANDRÉ (4), puis avec H. BIJAN (5), que des élevages de *Planorbis glabratus* et de *Bulinus contortus* pouvaient être maintenus à l'obscurité totale et sous un équipement que nous avons alors décrit, pendant 90 jours au moins lorsqu'on fournissait aux mollusques une alimentation appropriée. Nous avons noté, à cette occasion, que le rythme des pontes, le nombre des œufs, la croissance des embryons et des formes juvén-

(*) Séance du 10 avril 1957.

les n'étaient pas modifiés par l'absence de lumière pour *P. glabratus*, mais que l'adaptation de *B. contortus* était plus laborieuse, accompagnée d'une réduction des pontes et d'une mortalité anormalement élevée des formes juvéniles et des adultes.

Nous nous sommes proposé de rechercher dans quelles limites maxima de temps les élevages à l'obscurité totale de *Bulinus truncatus* (= *B. contortus*) pouvaient être maintenus et d'examiner quelles pouvaient être les incidences épidémiologiques et prophylactiques de nos constatations biologiques.

Le *dispositif expérimental* que nous avons utilisé a été le suivant :

des aquariums d'épreuve (eau de fontaine, capacité : 2 litres, température : 20° à 24°; aération à la pompe électrique, débit : 3 litres d'air à la minute), A et A', ont été placés à l'obscurité totale (cadres de tissu noir hermétique à la lumière; orifices d'aération coudés); 20 exemplaires adultes de *Bulinus truncatus* ont été introduits dans chaque aquarium; une alimentation appropriée a été distribuée régulièrement (renouvellement tous les 3 jours) sous la forme de feuilles de laitue, de poudre de phosphate de calcium et de poudre de muscle de poisson;

des aquariums témoins B et B' comportant un même nombre de mollusques et les mêmes dispositions alimentaires et générales que les aquariums d'épreuve ont été placés à la lumière naturelle.

L'expérience s'est étendue sur un an, soit du 2 avril 1956 au 2 avril 1957; elle couvre donc une période d'activité sexuelle et de reproduction (avril à octobre) et une période de diapause relative (novembre à mars).

Les *résultats expérimentaux* peuvent être groupés chronologiquement de la façon suivante :

Pendant la période s'étendant sur les mois d'avril, mai et juin 1956 (89 jours), la population adulte des mollusques dans les aquariums d'épreuve A et A' s'est réduite de 40 o/o; les pontes ont été relativement rares, compte tenu de la disparition de 40 o/o des adultes (30 o/o par rapport aux témoins); l'évolution des œufs a été abortive dans 50 o/o des cas environ; les formes juvéniles issues des œufs ont péri dans une proportion de 70 o/o au moins.

Pendant une seconde période s'étendant sur les mois de juillet, août, septembre et octobre 1956 (123 jours), la population adulte s'est maintenue; la fréquence des pontes et le nombre des œufs n'ont pas progressé; les œufs ont été pondus le plus souvent par petits groupes de 2 à 3, au lieu d'être distribués par grappes de 5 à 8; la mortalité des formes juvéniles s'est réduite par rapport à celle de la première période.

Dans une troisième période comprenant les mois de novembre et

décembre 1956, et des mois de janvier, février et mars 1957, la population adulte qui était initialement (2 avril 1956) de 20 mollusques par aquarium s'est sensiblement rétablie pour atteindre 18 et 19 individus par aquarium, grâce à l'apport des formes juvéniles évoluées. De rares pontes par petites grappes de 2 à 3 œufs non avortés ont été notées ; ils ont donné des formes juvéniles.

Si l'on confronte maintenant, après 365 jours, la situation démographique et le comportement des populations malacologiques dans les aquariums d'épreuve, A et A' (obscurité) et dans les aquariums témoins (lumière), on observe :

1° que la mortalité des adultes dans les aquariums d'épreuve (75 0/0) a été considérablement supérieure à celle des témoins, mais que la population adulte, grâce à l'apport des formes juvéniles évoluées, a pu se maintenir sensiblement à son chiffre initial. La population des aquariums témoins s'est accrue régulièrement grâce à l'apport de générations nouvelles et son chiffre d'adultes peut s'établir approximativement, en tenant compte des transferts successifs, nécessaires, dans des aquariums neufs, de 150 à 200 individus ;

2° que le nombre des pontes et celui des œufs a été sensiblement le même, en fonction de la population, dans les aquariums témoins et dans les aquariums d'épreuve pendant les 6 premiers mois (avril à octobre), mais que l'avortement des œufs a été de 50 0/0 à l'obscurité, alors qu'il a été exceptionnel chez les témoins ; par la suite, le nombre proportionnel des œufs pondus s'est réduit dans les aquariums d'épreuve — comme d'ailleurs chez les témoins — mais leur évolution a été meilleure et ils ont donné, pour la plupart, des formes juvéniles ;

3° que la mortalité des formes juvéniles dans les aquariums d'épreuve a atteint 90 0/0 environ (elle peut être estimée entre 5 et 10 0/0 chez les témoins) mais que les individus survivants ont néanmoins pu atteindre le stade adulte et s'accoupler.

Il ressort des observations que nous apportons qu'une population de *Bulinus truncatus*, mollusques vecteurs de la bilharziose urinaire, est capable, dans des conditions d'élevage à l'obscurité totale, de se maintenir et de se reproduire pendant plus d'un an ; le maintien de la population sous revue a été acquis, malgré une mortalité importante (75 0/0 des adultes initiaux, en particulier), par le moyen d'accouplements, de pontes et par l'évolution de 5 à 10 0/0 de formes juvéniles jusqu'au stade adulte.

L'adaptation de la population à l'obscurité, si elle s'est révélée difficile, s'est néanmoins réalisée.

Les constatations biologiques que nous exposons offrent un intérêt sur le plan épidémiologique et prophylactique.

On sait que des exemplaires et des gîtes de mollusques vecteurs, et, en particulier de *B. truncatus*, peuvent être identifiés dans des habitats naturels (puits, gueltas) ou artificiels (ouvrages d'art) situés à l'obscurité. En particulier, nous avons signalé que certains puits (gueltas) d'Atar en Mauritanie, constituaient des gîtes à *B. truncatus* (R. DESCHIENS (6)); F. MARILL (7) a dénoncé la présence d'exemplaires à *B. truncatus* dans des canalisations fermées et dans des siphons d'ouvrages d'art à Fondouk en Algérie; BARLOW (8) a trouvé en Egypte des colonies proliférantes de *B. truncatus*, dans des canaux cimentés et couverts, comme le grand canal de Boulool dans la province de Keneh.

La notion ancienne que les mollusques vecteurs des bilharzioses, et singulièrement les *Bulinus*, ne peuvent pas s'établir et se reproduire à l'obscurité doit être amendée.

Même dans des conditions d'obscurité quasi totale les colonies de mollusques peuvent s'établir et se perpétuer si des conditions alimentaires favorables se réalisent, et les mollusques ne sont pas difficiles, à cet égard.

Cependant, le défaut de lumière indépendamment de son incidence alimentaire est restrictif, comme le confirment nos recherches, quant à la prolifération des colonies; ceci nous conduit à examiner la portée prophylactique de cette constatation.

L'usage du recouvrement des canaux de distribution des eaux d'irrigation ou des eaux usées, ou celui de l'emploi de tuyaux d'irrigation ou de drains dans les aménagements agricoles ou urbains des régions d'endémie bilharzienne est recommandé par les services et les ingénieurs sanitaires.

Cette recommandation doit être suivie; elle est certainement limitante de la densité des populations de mollusques et elle écarte de l'eau, difficilement accessible, les enfants et les adultes qui pourraient la contaminer; il est notoire en particulier que les jardins et les petits champs du faubourg de Mashah-Hindiyah, proche de Bagdad, qui reçoivent leur eau d'irrigation par des canaux couverts, sont quasi indemnes de mollusques, alors que les zones adjacentes qui reçoivent l'eau par des canaux à ciel ouvert sont colonisées (J. M. WATSON, 1957) (*op. cit.*).

Cependant, les canaux couverts, les tuyaux de drainage ou les siphons n'assurent qu'une sécurité relative, ils contiennent des collections d'eau pouvant être colonisées par les mollusques, surtout si l'écoulement est lent; le traitement de ces collections doit être compris dans le programme des campagnes d'assainissement par des molluscoïdes chimiques, par exemple, ou par toute autre mesure prophylactique anti-mollusque.

RÉSUMÉ

Bulinus truncatus, mollusque vecteur de la bilharziose urinaire est capable, dans des conditions d'élevage à l'obscurité totale, de se maintenir et de se reproduire pendant plus d'une année; le défaut de lumière est néanmoins limitant par rapport aux élevages témoins.

Ces faits biologiques concordent avec les données épidémiologiques montrant que des exemplaires ou des colonies de mollusques vecteurs peuvent être observés dans des habitats naturels ou artificiels obscurs (puits, gueltas, canaux couverts, tuyaux, siphons).

Sur le versant prophylactique, les faits sous revue indiquent que l'établissement de canaux couverts, de drains, de tuyaux ou de siphons d'irrigation ou d'évacuation dans les régions d'endémie, sont des mesures qui limitent sans doute la densité des peuplements malacologiques, mais qui ne donnent pas une sécurité entière et qui n'excluent pas les actions molluscocides par agents chimiques ou biologiques.

*Institut Pasteur,
Service de Parasitologie.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BARLOW (C. H.). — The value of canal clearance in the control of Schistosomiasis in Egypt. *Amer. J. Hyg.*, 1937, 22, 376-391.
- (2) ZAKARIA (H.). — Further studies on the ecology of the intermediate hosts of *Schistosoma hæmatobium*, *Bulinus truncatus*. *Bull. End. Dis. Baghdad*, 1955, 1, 123-155.
- (3) WATSON (J. M.). — Etat actuel des connaissances relatives à l'écologie et à la distribution de *Bulinus truncatus* au Moyen-Orient. *Rapport Organisation Mondiale de la Santé*, Paris, 3-9 oct. 1956.
- (4) ANDRÉ (J.) et DESCHIENS (R.). — Incidence de la radio-activité d'une eau thermale (Plombières) sur des Planorbines vecteurs des bilharzioses. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1956, 49, 2, 277-281.
- (5) DESCHIENS (R.) et BIJAN (H.). — Comportement d'élevages de mollusques vecteurs des bilharzioses à l'obscurité. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1956, 49, 4, 658-661.
- (6) DESCHIENS (R.). — Le problème des bilharzioses dans les territoires de l'Union Française. *Monographie de la Société de Pathologie exot.*, 1952.
- (7) MARILL (F.).
- (8) BARLOW (C. H.), ABDEL AZIM (N.), KHIALEK (H. A.), MARZOUK (M. S.), FALIMY (M.) et AYAD (N.). — First ten annual reports of Bilharzia snail control section of the Ministry of Public Health, Egypt, for the years 1942-1951. *Govt. Press, Cair.*

SUR DES CONDITIONS EXTÉRIEURES
DE LA CRISTALLISATION RÉDUVIDIQUE
DE L'HÉMOGLOBINE :
LA PRISE DU REPAS SANGUIN
DES RÉDUVIDÉS HÉMATOPHAGES
SUR DES VOLONTAIRES ALITÉS
ET SUR DES ANIMAUX CURARISÉS

Par FRANÇOIS PICK (*)

La manière par laquelle les Réduvidés hématophages, s'ils sont libres de leurs mouvements, prennent leur repas sanguin sur l'homme ou sur des animaux n'a pas encore été sujet de recherches plus approfondies. L'état actuel de nos connaissances portant sur cette question est assez limité.

Le folklore d'Amérique du Sud nous apprend que les Réduvidés hématophages ont été déjà connus par les indigènes qui les ont appelés *Vinchuca*. D'après le Père J. A. LIRA (6), il s'agit d'un dérivé du mot *wihchukuy* qui signifie se laisser tomber avec force. Evidemment, les Réduvidés qui tombent provoquent, en touchant le sol, un bruit caractéristique avant de s'engager dans la recherche de leur proie. A partir du xvi^e siècle de notre ère, les voyageurs qui ont visité l'Amérique du Sud mentionnent l'attaque nocturne et la réplétion de ces arthropodes par leurs repas sanguins sur l'homme.

La première observation scientifiquement valable a été faite par CH. DARWIN (2) qui, en 1832, a fait des expériences avec un spécimen de *Benchuca*, une espèce de *Reduvius*. Placé sur une table, l'insecte en face d'un doigt humain a immédiatement redressé son rostre pour prendre son repas sanguin. La piqure a été indolore.

En 1911, C. CHAGAS (1) a communiqué qu'un de ses collaborateurs en s'appuyant contre la paroi interne d'une chaumière a été piqué dans la nuque par un spécimen des Réduvidés hématophages étant fixé apparemment sur la paroi.

En 1935, H. GALLIARD (5) a constaté que les triatomes piquent beaucoup moins faiblement, quand ils sont placés directement à plat sur la peau de l'homme ou de l'animal-hôte.

En 1940, E. DIAS (3), à des fins de xéno-diagnostic, place les Réduvidés hématophages directement sur la peau ou les enferme dans n'importe quel récipient.

En 1944, S. MAZZA, S. MIYARA et M. E. JÖRG (8), expérimentant

(*) Séance du 13 mars 1957.

sur des animaux anesthésiés par des barbituriques, viennent à la conclusion que le comportement des Réduvidés hématophages vis-à-vis de l'homme devrait être le même. Mais, ces auteurs ne peuvent pas s'expliquer la préférence générale des Réduvidés pour attaquer la figure de l'homme.

En 1946, E. DIAS (4) reproduit la photographie d'un homme endormi reposant sur le côté droit qui est attaqué par un spécimen adulte d'un Réduvidé hématophage au voisinage de l'angle externe de son œil gauche.

En présence de ces données, nous avons jugé intéressant de reprendre la question de la prise du sang par des Réduvidés hématophages libres de leurs mouvements dans le but d'examiner par la suite si de telles conditions extérieures pouvaient influencer la cristallisation réduvidique de l'hémoglobine.

Nous avons mis en expérience tous les âges du *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835) et du *Triatoma infestans* (KLUG, 1834) ainsi que, de cette dernière espèce, des spécimens adultes capturés dans les chaumières de la campagne de l'Uruguay.

Dans un premier temps, nous avons mis en expérience des animaux curarisés par voie intra-péritonéale. Ce mode de curarisation permet de maintenir les animaux pendant plusieurs heures dans un état d'atonie générale à respiration superficielle (9).

Ces animaux curarisés ont été placés dans des récipients spacieux permettant le libre jeu de Réduvidés hématophages. Dans ces conditions, on voit les Réduvidés rapidement redresser leur rostre pointant la peau des animaux. En règle générale, les Réduvidés ne s'approchent du tégument de leur proie qu'à la distance nécessaire pour pouvoir enfoncer leurs stylets. Rarement, les Réduvidés s'appuyent avec une ou les deux pattes antérieures sur leur hôte. Exceptionnellement, on peut constater que les nymphes du premier ou deuxième âge montent sur l'hôte à exploiter.

En utilisant des animaux traités de la même manière mais suspendus à l'intérieur d'un cadre en bois en position verticale, nous avons pu constater que les Réduvidés attaquent de tous les côtés et dans n'importe quelle position, ce qui confirme les observations analogues faites antérieurement par M. MATHIS et P. NICOLLE (7).

Comme volontaires, se sont mis à notre disposition 10 malades dont 4 lépreux de l'Hôpital de Maladies Infectieuses du Ministère de la Santé Publique de l'Uruguay. Toutes ces personnes se sont allitées, couchant sur le côté droit et laissant à découvert l'avant-bras gauche et la tête. Dans ces conditions, nous avons laissé tomber d'une hauteur de 1 m. 50 environ les différents spécimens de Réduvidés hématophages juste au milieu du lit.

La première action des Réduvidés a été l'essai d'atteindre leur

proie à travers les mailles du drap. Les spécimens qui se sont égarés ont été enlevés tandis que ceux qui se sont dirigés en direction de la tête ont pu prendre leur repas sanguin sur les parties découvertes des personnes alitées. Ainsi, nous avons pu observer que c'est le premier contact avec la peau humaine qui est utilisé pour insérer les stylets. Dans ces cas aussi, les Réduvidés se sont tenus à l'écart de leur proie.

Comme on a pu s'y attendre, la comparaison de cristallisations par des Réduvidés placés dans des récipients peu spacieux, d'une part, et par des Réduvidés libres de leurs mouvements, d'autre part, n'a révélé aucune différence.

Cette observation rend valables les résultats diagnostiques obtenus par voie de cristallisation réduvidique de l'hémoglobine au cours d'une enquête sur une grande échelle dont l'interprétation a été basée sur des expériences de laboratoire.

Nous reviendrons ultérieurement sur cette enquête.

*Hôpital de Maladies Infectieuses
du Ministère de la Santé Publique
de la R. O. de l'Uruguay.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) CHAGAS (C.). — Nova entidade morbida do homem. Rezumo geral de estudos etiologicos e clinicos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1911, 3, 219-275.
- (2) DARWIN (CH.). — The Voyage of the « Beagle ». Collin's Clear-Type Press, London and Glasgow, 1845.
- (3) DIAS (E.). — Tecnica do xenodiagnostico na molestia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1940, 35, 335-342.
- (4) DIAS (E.). — O « barbeiro » e a doença de Chagas, Eu sei tudo, 1946, 9.
- (5) GALLIARD (H.). — Recherches morphologiques et biologiques sur la reproduction des Réduvidés hématophages (*Rhodnius* et *Triatoma*). 1935, 160, Paris, Masson et Cie.
- (6) LIRA (J. A.). — Dictionnaire Kkechuwa-Espagnol, 1944.
- (7) MATHIS (M.) et NICOLLE (P.). — Sur le comportement des Réduvidés hématophages *Rhodnius prolixus* Stal et *Triatoma infestans* Klug et leur aptitude à transmettre la maladie de Chagas. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 28-30.
- (8) MAZZA (S.), MIYARA (S.) et JÖRG (M. E.). — Exámenes histologicos de biopsias de conjuntivas en primer periodo de Enfermedad de Chagas. *M. E. P. R. A.*, 1944, 68, 1-80.
- (9) PICK (F.) et ESTABLE (J. J.). — Administración experimental de curares naturales por via intraperitoneal. *Arch. Soc. Biol., Montevideo*, 1954, 24, 11-16.



Fig. 1. — Répercussion du myélome à gamma-globulines sur la cristallisation réduite de l'hémoglobine du malade. On peut observer la présence de deux cristaux de différent aspect. Absence de formes prismatiques à rectangles (Gr. = 100 d.).

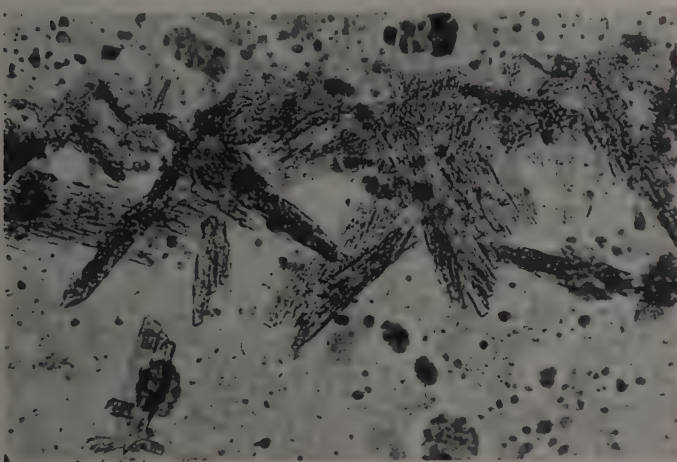


Fig. 2. — Répercussion du myélome à gamma-globulines sur la cristallisation réduite de l'hémoglobine du malade. Présence de cristaux mal formés à aspect poreux. Absence de cristaux normaux (Gr. = 100 d.).

LA RÉPERCUSSION DU MYÉLOME A GAMMA-GLOBULINES SUR LES CRISTALLISATIONS RÉDUVIDIQUES DE L'HÉMOGLOBINE DE MALADES

Par FRANÇOIS PICK (*)

Après avoir signalé plusieurs atteintes humaines qui montrent une nette répercussion, parfois même très prononcée, sur les cristallisations réduvidiques de l'hémoglobine de malades respectifs, nous présentons dans cette note, la répercussion du myélome à gamma-globulines sur les cristallisations réduvidiques de l'hémoglobine de ces malades.

Pour ces recherches, nous avons mis en expérience des nymphes du deuxième âge de *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835) dont la génération et le stade précédents ont été exclusivement alimentés sur le lapin dont l'hémoglobine du sang ingéré par des Réduvidés hématophages, ne donne pas la cristallisation réduvidique de son hémoglobine.

La cristallisation réduvidique de l'hémoglobine des malades atteints d'un myélome à gamma-globulines, ne commence que 6 jours après le repas sanguin de Réduvidés ayant exploité cet hôte.

Dans l'état actuel de nos expériences, le début de la cristallisation réduvidique d'une hémoglobine humaine, représente la première indication qu'on se trouve en présence d'un état pathologique du donneur.

Par la suite, nous avons pu observer l'élaboration de cristaux d'hémoglobine atypiques en l'absence totale de formes prismatiques qui présentent la forme unique de l'hémoglobine de l'homme sain (fig. 1 et 2).

La répercussion extrême et totale du myélome à gamma-globulines sur les cristallisations réduvidiques, élargit le cadre des possibilités diagnostiques acquises sur ce plan.

Pour augmenter les possibilités d'un diagnostic différentiel, nous ajoutons à la technique de la cristallisation réduvidique de l'hémoglobine, la recherche indirecte de l'histidine par la détermination de l'histamine (1) et l'établissement de l'hémolymphegramme (2).

Etant donné que nous sommes encore loin de connaître les répercussions sur le plan total de la pathologie humaine, les trois

(*) Séance du 10 avril 1957.

techniques réunies qu'on peut exécuter sur les mêmes spécimens de Réduvidés hématophages, peuvent contribuer à orienter l'interprétation de l'atteinte.

*Hôpital de Maladies Infectieuses
du Ministère de la Santé Publique, Uruguay.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) PICK (F.). — Présence d'histamine chez les Réduvidés hématophages. *C. R. Ac. Sci.*, 1954, 239, 1076-1078.
- (2) PICK (F.). — Recherches électrophorétiques sur l'hémolyse des Réduvidés hématophages. *C. R. Ac. Sci.*, 1956, 242, 564-565.

MÉMOIRES

A PROPOS D'UN CAS D'AFFECTION NÉO-RICKETTSIENNE A SYMPTOMATOLOGIE DE FIÈVRE ONDULANTE

Par P. GIROUD, F. BLANC, C. DAHL et J. BOUAT (*)

La malade entre dans le service de clinique des maladies tropicales le 14-9-1956 parce que livrée à un accès fébrile important d'allure pseudo-palustre.

Il s'agit d'une religieuse de 26 ans qui vient d'effectuer, au Cameroun, de décembre 1955 à septembre 1956, un séjour marqué par de très nombreux accès de fièvre.

L'histoire est assez simple :

Le premier accès fébrile serait survenu trois semaines après l'arrivée. Les autres, réguliers d'apparition, ne laissant entre eux que quelques jours d'apyrexie, s'inscrivaient tous sur le même type : fièvre rémittente de quelques jours dans un cortège immuable de frissons et de sueurs extrêmement profuses. La courbe de température n'a malheureusement pas été conservée.

La malade a été examinée au cours de nombreuses mises en observation dans des milieux médicaux outillés et compétents sans qu'aucun diagnostic ait pu être établi, ni même soupçonné ; le paludisme paludrino-résistant fut évoqué, sans plus, la chimio-prophylaxie paludeenne étant assurée par la paludrine régulièrement prise tous les jours à la dose de 0 g. 10.

Une seule fois, à l'Hôpital de Douala, des hématozoaires (espèce ?)

(*) Séance du 13 mars 1957.

auraient été mis en évidence, mais cette affirmation apparaît des plus discutable car aucun traitement spécifique ne fut entrepris et les seuls médicaments employés contre l'état fébrile furent des antibiotiques.

Après neuf mois de séjour, la malade est évacuée sur la France.

Pendant la traversée de retour, du 22 août au 6 septembre la chimio-prophylaxie individuelle par paludrine fut continuée et la fièvre persista. Un traitement clinique authentique par 0 g. 80 par jour de paludrine fut même tenté pendant cinq jours sans aucun résultat.

Pendant le bref passage à la Fraternité d'Aix-en-Provence qui précéda l'entrée dans le service de clinique des maladies tropicales, les manifestations fébriles continuèrent et, le 13 à minuit, une élévation thermique plus élevée (à 40°) fit appeler d'urgence le médecin de l'établissement qui prescrivit la quinine (0 g. 20 par voie intra-musculaire).

EXAMEN A L'ENTRÉE

- bon état physique apparent ;
- pas d'amaigrissement ;
- pas d'anémie clinique, pas de subictère ;
- téguments cutanés normaux.

L'examen clinique ne révélera rien d'anormal :

- la rate n'est pas palpable ;
- le foie est dans ses limites, un peu douloureux à l'ébranlement ;
- une corde colique discrètement spastique est à peine appréciée à droite. Il n'existe d'ailleurs aucun trouble du transit intestinal ;
- le système nerveux est rigoureusement indemne ;
- l'appareil cardio-vasculaire est normal : T. A. : 11,5-6, pouls égaux, réguliers, synchrones à 60 ;
- la radiographie pulmonaire révélera des aspects rigoureusement normaux.

Les examens de laboratoire habituels et ceux commandés par un état fébrile de longue durée sont immédiatement entrepris :

- l'azotémie à 0,35 0/00 ;
- la glycémie à 2,72 0/00 ;

G. R.	3.900.000
G. B.	4.000
P. N.	50
P. E.	14
M.	6
L.	30

Absence d'hématozoaires et de tous autres parasites sanguicoles.

Temps de saignement : 4 minutes ;

Temps de coagulation : 6 minutes ;

Signe du lacet : négatif ;

V. S. H. : 5-7.

— les urines, chimiquement normales, ne contiennent ni sucre, ni albumine ;

— intra-dermo-réaction à la Mélitine : négative ;

— séro-diagnostic de Wright : négatif ;

— séro-diagnostic T. A. B. :

T. H.	1/50
T. O.	négatif
A. H.	1/100
B. H.	1/50
B. O.	négatif

— hémocultures aérobies et anaérobies (4 hémocultures pratiquées pendant 4 jours à chaque acmé thermique) ne pousseront pas.

— l'électrophorèse montre une migration à peu près normale de la sérine et des diverses globulines.

— Dans les selles : très nombreux cristaux d'oxalate de chaux, cellulose digestive, absence de parasite.

Les antécédents pathologiques de la malade sont relativement chargés : rougeole, coqueluche, oreillons dans les premières années de la vie ; chorée à l'âge de 9 ans dont l'évolution paraît avoir été grave ; diphtérie à l'âge de 10 ans, fièvre typhoïde à bacilles paratyphiques (?) à l'âge de 18 ans ; appendicectomie en 1948 ; en 1950, abcès au niveau de l'avant-bras gauche où des streptocoques hémolytiques sont mis en évidence. Dans les jours suivant l'incision de l'abcès, apparition de douleurs débutant au niveau du coude gauche, diffusant aux autres articles, cliniquement rapportées au R. A. A. Rapide succès par une salicylothérapie intensive (18 g. par jour en perfusions et par voie orale). Un accident cérébral alors survenu aurait été rapporté à l'intoxication salicylée. Cet accident dut être important car la malade fut soumise régulièrement à des examens électro-encéphalographiques. Une hémianopsie aurait été découverte alors à l'occasion d'un examen neurologique complet. Un abcès pharyngien en avril 1955, traité par 15 jours de pénicillinothérapie, abcès ayant récidivé à deux reprises dans les mois suivants.

Dans les antécédents héréditaires rien n'est à noter.

Dans les antécédents collatéraux, il faut citer une sœur décédée des suites d'endocardite subaiguë.

Le diagnostic d'un tel état fébrile de longue durée n'est pas établi.

Il ne s'agit nullement, comme la chose avait pu être, dès l'arrivée, envisagée, ni d'un paludisme paludrino-résistant, ni de la réaction fébrile d'une amibiase hépatique méconnue.

Par ailleurs, aucun viscère n'est en souffrance. Les stigmates sérologiques et d'allergie cutanée sont défaillants. Les hémocultures n'ont pas poussé. En l'absence de toute étiologie reconnue, une thérapeutique à visée symptomatique banale et à fins psychologiques est simplement instituée.

Le 22-9, l'apparition de gonalgies bilatérales rapidement suivies de douleurs des articulations tibiotarsiennes fait envisager que le problème étiologique est résolu : récurrence de *maladie de Bouilaud* que le passé de la malade et les sudations profuses suivant chaque poussée thermique pouvaient fort bien faire accepter.

La malade recevra du 24-9 au 7-10, chaque jour : 7 g. de salicylate de soude en perfusions veineuses lentes et 0 g. 10 d'extrait thyroïdien.

La défervescence semble vouloir s'amorcer mais, le 29, la température remonte et reprend le même type rémittent dans le même cortège de sueurs profuses. La salicylothérapie sera arrêtée le 7-10, mais, devant le tableau clinique inchangé de pyrexie, de sudations, d'arthralgies, reprise le 14-10, sur le mode discontinu cette fois (10 g. de salicylate en une seule prise tous les trois jours). Elle sera continuée jusqu'au 22-10. Les résultats seront rigoureusement nuls bien qu'une ébauche de chute thermique progressive ait été notée mais qui ne se maintiendra pas.

D'autres investigations sont alors entreprises. L'hypothèse d'une trypanosomose à expression clinique fébrile pure est un instant envisagée, les conditions du séjour au Cameroun donnant un certain corps à cette hypothèse.

Le sang périphérique est injecté au cobaye par vois péritonéale sans résultat. Une triple centrifugation et l'examen de multiples gouttes épaisses ne permettent pas de déceler le trypanosome.

Le fond d'œil s'avère rigoureusement normal.

La ponction lombaire donne issue à un liquide physiologique normal dans ses constituants chimiques et ne contenant aucun élément cytologique.

Le médullogramme montrera une image strictement normale.

La possibilité d'une distomatose fébrile est un instant retenue devant l'éosinophilie sanguine importante (14 0/0).

Les trois bilés A, B, C sont retirées sans difficulté par tubage duodénal ; elles ne contiennent aucun élément parasitaire.

Les divers segments osseux du squelette sont radiologiquement examinés et rien ne peut être mis en évidence qu'une asymétrie pelvienne.

Il devenait de plus en plus difficile de donner une étiquette étiologique à cette fièvre de longue durée dont l'évolution vérifiée pendant un mois et demi à l'hôpital ne s'accompagnait d'aucune adulation organique cliniquement évidente et que rien ne permettait de rapporter à une cause générale.

Parmi les hypothèses théoriquement envisageables, celle d'une fièvre Q. n'avait pas encore été soulevée.

Le sang est alors adressé au Laboratoire des Rickettsioses de l'Institut Pasteur de Paris (professeur P. GIROUD) le 1^{er} novembre et la réponse du 8 novembre vient apporter le premier élément de quelque valeur dans l'établissement d'un diagnostic étiologique :

Agglutinations des rickettsies :

Epidémiques	o
Murines	o
Boutonneuses	++
Fièvre Q.	o
Néo-rickettsies X 14	+
V 14	+

L'agglutination positive aux rickettsies de la fièvre boutonneuse ne paraissait pas devoir être retenue et pouvait être considérée comme une réponse de groupe.

Le traitement par un antibiotique comme l'aureomycine ou le chloramphénicol est conseillé avec nécessité d'un nouvel examen sérologique dix jours après la fin du traitement.

Le 6-11, le traitement par la tifomycine est commencé (2 g. 50 par jour) et poursuivi jusqu'au 18. Les résultats sont rigoureusement nuls.

Du 19 au 26, un traitement par terramycine (2 g.) et cortancyl (300 mg.) est entrepris. Les résultats sont également rigoureusement nuls.

Du 27-11 au 8-12, 2 g. de rhovamycine par jour sont donnés. Une thérapeutique anti-inflammatoire y est adjointe cette fois sous forme de cortisone (300 mg. par jour).

Les résultats paraissent bons mais, très vite, une réaction hépatique extrêmement douloureuse, une augmentation du volume du foie, des réactions basales droites font envisager une amibiase hépatique dont la survenue — nous en avons eu à maintes reprises la démonstration — est extrêmement banale chez les amibiens latents à l'occasion d'un traitement anti-inflammatoire.

La rhovamycine sera continuée jusqu'au 8-12, la cortisone sera arrêtée le 2, et, du 3 au 8-12, un traitement émétinien intense sera sanctionné par son bon effet habituel sur les éléments hépatiques du tableau et sur la V. S. H.

Toute thérapeutique est alors arrêtée. Le syndrome fébrile rémitte, les frissonnements, les sudations demeurent rigoureusement inchangés. Contrastant avec ces signes impressionnants, l'état général de la malade se maintient remarquablement bon.

Du 19 au 28-12, le traitement par la rhovamycine est repris sans adjonction de thérapeutique hormonale anti-inflammatoire. La V. S. H. redevenue normale le demeure. La température, les frissonnements et les sueurs demeurent inchangés. Une cystite apparaît alors, extrêmement douloureuse. L'arbre urinaire est exploré radiographiquement et ne met en évidence aucune anomalie. La cystite cède à une thérapeutique banale.

Dix jours après la fin du traitement par la rhovamycine, la température devient normale, et se maintiendra normale. La malade est revue en consultation deux fois dans les trois semaines qui suivront sa sortie : elle est toujours apyrétique.

Le sang est alors adressé à l'Institut Pasteur aux fins d'une nouvelle agglutination. Les résultats sont les suivants :

Toutes les agglutinations préalablement positives aux antigènes rickettsiens et néo-rickettsiens sont négatives (néo-rickettsiose et germes voisins du groupe de la psittacose).

Le diagnostic d'affection néo-rickettsienne réalisant le tableau d'une fièvre ondulante à hémoculture négative est retenu.

Le germe en cause paraît être une néo-rickettsie voisine du groupe de la psittacose.

LA MALADIE DE CARRION

Résistance de *Bartonella bacilliformis* au processus de lyophilisation.

Par SIMON PÉREZ-ALVA, FRANCIS ROGER et ANNIE ROGER (*)

INTRODUCTION

Les références les plus importantes sur les propriétés biologiques et biochimiques de *B. bacilliformis* et, en particulier, sur la survie et la conservation du germe dans les milieux de culture et diverses sérosités, se trouvent dans les recherches de NOGUCHI (12) en 1926, T. BATTISTINI (4) en 1927, L. ALDANA (1) en 1929 et A. HERRER en 1948 (9). Nous devons aussi ajouter à cette liste les travaux non moins remarquables de ALDANA (2) (3), BATTISTINI MORE, MUNOZ et

(*) Séance du 10 avril 1957.

TISNADO MUNOZ (5) et, plus récemment encore de R. WIGAND (14) en 1952, sur la résistance de *B. bacilliformis* dans une série de milieux défavorables.

On sait aujourd'hui que l'on obtient la meilleure culture à l'obscurité et à une température de 25° C. A 37°, au contraire, le développement ne se produit pas et si on place à 37° des cultures dont on avait déjà provoqué le développement à 28°, on observe un arrêt de la culture et une dégénérescence du germe. Au bain-marie à 50°, la bactérie meurt en 10 minutes et à 56° C en 7 minutes.

Une quantité de 0 cm³ 2 de bichlorure de mercure à 1/4.000 dans un tube de culture tue le germe en 12 heures. Le formol à 10 0/0 (0 cm³ 1) et le phénol à 10 0/0 (0 cm³ 5) produisent le même effet. Les agents bactériostatiques, bactéricides ou bactériolytiques entraînent une augmentation de la taille de la Bartonelle et, finalement, sa dégénérescence (2). Parmi ces agents, on peut citer surtout la pénicilline, la streptomycine (3) (11) (5), la chloromycétine (14), etc.

Survivance de Bartonella bacilliformis dans les milieux de culture.

NOGUCHI (12) a rapporté que *B. bacilliformis* se conserve pendant des mois à la glacière dans les milieux où le germe a atteint auparavant un degré satisfaisant de multiplication. BATTISTINI (4) a signalé une survie de 60 jours dans les milieux semi-solides conservés à la température du laboratoire (20° à 25° C), sans aucune précaution spéciale destinée à éviter l'évaporation; dans les milieux solides, à la température du laboratoire et avec un degré optimum d'humidité, la Bartonelle reste en vie pendant 40 jours. Le même auteur (4) a établi que la bactérie non seulement reste en survie dans le sang citraté provenant d'individus atteints de la maladie de Carrion mais encore qu'elle s'y multiplie quand le prélèvement est placé à une température comprise entre 14° et 26° C et conservé ainsi pendant 1 à 3 mois. A. HERRER (9) a étendu cette constatation au sang coagulé et a constaté, dans ces conditions, une vitalité du germe de l'ordre de plusieurs mois. L. ALDANA (1) considère que la Bartonelle est viable pendant 4 mois, dans le sérum, le plasma ou le sang citraté. Dans les milieux de culture liquide (bouillon au sang) et solides (gélose au sang) à la température du laboratoire — et avec les précautions nécessaires, pour éviter la dessiccation — le germe se conserve 9 mois.

La conservation de la souche est donc très facile à la température du laboratoire, surtout dans les milieux semi-solides (mais aussi dans le bouillon au sang ou sur gélose au sang, etc.) à condi-

tion de boucher hermétiquement les tubes de culture avec des bouchons de caoutchouc et d'effectuer le repiquage tous les 3 à 5 mois.

Cependant, les microorganismes parasites, protozoaires, bactéries, rickettsies ou virus subissent en milieu aqueux une inactivation progressive plus ou moins rapide selon le germe en cause, mais toujours irréversible (13) (10). Cette inactivation est beaucoup plus lente après congélation du milieu de suspension, d'autant plus lente d'ailleurs que la température de conservation est maintenue plus basse, aux environs de -80°C par exemple.

Malgré les excellents résultats auxquels la congélation permet de parvenir, ceux-ci ne sont, pourtant, pas suffisants à assurer la conservation très prolongée des souches et, surtout, à permettre le transport à grande distance dans des pays en climat varié, etc...

Seule, la lyophilisation permet ordinairement de surmonter ces difficultés de façon presque parfaite (10) et c'est pourquoi son application s'est de plus en plus généralisée. C'est pourquoi aussi nous avons tenté d'utiliser ce procédé de conservation avec *B. bacilliformis*.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

1° *Souche de Bartonelle*. — Nous avons employé la souche n° 529 conservée au laboratoire depuis une quinzaine d'années par repiquages successifs dans le milieu de NOGUCHI (12) et dont la culture a toujours été effectuée à la température de 28°C et à l'obscurité.

Pour la lyophilisation, c'est également une culture au 8^e jour sur milieu de NOGUCHI que nous avons utilisée. Le contrôle microscopique effectué au Giemsa nous a montré les Bartonelles en culture pure, sous forme de colonies compactes et aussi d'éléments dispersés.

2° *Technique de lyophilisation*. — La lyophilisation comporte deux temps successifs : la congélation préalable et la sublimation sous vide à basse température.

a) *Congélation* : d'eux d'entre nous, au cours d'une expérimentation antérieure poursuivie sur des cellules en survie (globules rouges), des rickettsies et de gros virus du groupe de la psittacose, avaient été amenés à constater l'utilisation satisfaisante des processus de congélation rapide à condition de ne s'adresser qu'à des milieux de suspension pauvres en électrolytes et dont l'isotonie était assurée, par exemple, par du saccharose.

Bien que les résultats obtenus par la congélation rapide soient toujours moins bons que ceux qui résultent de l'utilisation d'un

processus de congélation lente, nous avons cependant décidé d'utiliser la technique rapide pour *B. bacilliformis* car elle permet plus facilement de parvenir à la répartition du liquide en couche mince à l'intérieur des ampoules à dessiccation — et l'on sait que cette couche mince est, elle-même, indispensable à la rapidité de la sublimation ultérieure.

Nous avons dilué la partie d'un milieu de NOGUCHI correspondant à la zone optima de culture avec un volume égal du liquide conservateur riche en saccharose proposé par MM. BOVARNICK, MILLER et J. SNYDER (6) pour la conservation des rickettsies.

Nous avons ensuite réparti la suspension ainsi obtenue dans des ampoules de 5 cm³ à raison de 0 cm³ 5 par ampoule et nous avons congelé ces ampoules dans un bain d'alcool absolu refroidi à — 78° C par de la glace carbonique. Nous avons pris soin au cours de cette dernière opération de conférer aux ampoules un mouvement de rotation rapide de façon à obtenir la congélation en couche mince recherchée.

b) *Sublimation sous vide à basse température* : à la suite d'une étude systématique basée sur des dosages comparés de virulence, avant et après lyophilisation, l'un d'entre nous avait pu constater la supériorité des procédés où la température des ampoules est maintenue constante pendant toute la durée de l'évaporation et reste inférieure au point de fusion du mélange qu'elles contiennent.

Nous n'avons donc pas utilisé la technique de MUDD-FLOSDORF (7) où la sublimation elle-même assure dans les ampoules le maintien d'une température initialement inférieure au point de fusion, mais où la température remonte, en fait, progressivement à mesure que progresse la lyophilisation.

Nous nous sommes, en revanche, adressé au procédé simple de MACFARLANE (10) où les ampoules sont plongées pendant toute l'opération dans un bain de glace et de sel à — 18° C et nous avons utilisé une pompe à palette permettant d'obtenir l'extinction dans un tube à décharge, avec piège physique constitué par un bain à — 80° C.

Les ampoules étaient reliées à la pompe et à son piège par un système de distribution ne comportant l'interposition d'aucun filtre susceptible d'opposer un important obstacle à l'écoulement moléculaire.

Les ampoules ont ainsi été desséchées en 3 heures environ et nous avons prolongé la dessiccation 1 heure après la constatation de l'état pulvérulent des produits, afin d'obtenir une élimination plus parfaite de l'humidité résiduelle (souvent préjudiciable à une longue conservation).

Le produit sec ainsi obtenu est très fortement hygroscopique, aussi avons nous directement scellé les ampoules sous vide afin d'éviter toute réhydratation au cours des manœuvres ordinairement utilisées avec les techniques en deux temps qui comportent l'introduction d'air ou d'un gaz inerte.

3° *Contrôle de lyophilisation.* — Aussitôt après la lyophilisation, nous avons prélevé une ampoule pour étudier la résistance de la Bartonelle au processus utilisé.

Après avoir rompu l'ampoule sous la protection d'un tube de caoutchouc muni d'un filtre de coton, nous y avons ajouté immédiatement une quantité d'eau distillée de 0 cm³ 5 (de l'ordre par conséquent du volume du liquide réparti dans l'ampoule au départ) et nous avons procédé aux ensemencements.

RÉSULTATS

La lyophilisation de la culture jeune en milieu de Noguchi (mélangé à parties égales avec du liquide conservateur) nous a permis de constater un excellent résultat.

Le germe a résisté de façon satisfaisante au triple processus de congélation-sublimation-réhydratation.

L'ensemencement sur gélose au sang a, en effet, permis d'obtenir une culture abondante en 10 à 12 jours. Le temps de latence de la culture témoignait donc, cependant, d'un certain ralentissement dans la multiplication de *B. bacilliformis*.

Nous nous sommes donc demandé si ce ralentissement était dû à une modification du germe ou à une simple destruction d'une partie des Bartonelles au cours de la lyophilisation.

Pour vérifier d'abord l'hypothèse de la destruction partielle des germes, nous avons utilisé la méthode des dilutions afin de comparer le titre limite de culture obtenu avec les suspensions *avant* et *après* lyophilisation:

Nous avons choisi à cet effet un milieu plus approprié : le liquide de condensation d'une culture sur gélose au sang âgée de 20 jours et effectuée à 28° C.

Les raisons de notre choix résidaient dans la dispersion des Bartonelles dans ce liquide où on ne trouve pas les colonies compactes du milieu semi-solide de Noguchi, l'étude des titres limites de culture était ainsi beaucoup plus exacte.

Nous avons dilué le liquide de condensation à partie égale avec du liquide conservateur (solution-mère) et nous avons ensuite effectué des dilutions à partir de la suspension-mère de 10^{-1} à 10^{-24} .

Nous avons lyophilisé les 8 premières dilutions et nous avons

procédé pour cela exactement comme dans notre premier essai.

Aussitôt après la dessiccation, nous avonsensemencé séparément chaque dilution lyophilisée en bouillon au sang. Simultanément, nous avonsensemencé aussi les 25 dilutions du liquide non lyophilisé.

Le contrôle de la culture a été effectué le 10^e jour et nous avons pu établir la résistance de la Bartonelle jusqu'à la dilution de 10^{-3} . Nous avons donc constaté ainsi une notable diminution de la survie par rapport aux suspensions non lyophilisées qui nous ont permis d'obtenir une culture positive jusqu'à une dilution de 10^{-10} .

RÉSUMÉ

1^o Avec le procédé utilisé qui comporte l'emploi d'un milieu de dilution pauvre en électrolytes, une congélation rapide du germe à — 80° C et une sublimation sous vide à — 18° nous avons observé une résistance satisfaisante de *B. bacilliformis* au processus de lyophilisation.

2^o Cependant, nous avons constaté, pour des doses égales d'ensemencement, un ralentissement notable de la vitesse de culture des suspensions lyophilisées par rapport à leurs témoins.

3^o Nous avons pensé que ce ralentissement de la culture correspondait à la destruction d'une partie des germes au cours de l'un quelconque des temps successifs de la lyophilisation.

4^o Nous avons donc essayé de vérifier cette hypothèse en ayant recours à des dilutions du milieu de culture. Ce procédé nous a, en effet, permis de démontrer la destruction partielle des germes pendant la lyophilisation, les titres limites de culture étant nettement moins élevés après lyophilisation.

*C. N. R. S. et Service des Rickettsioses
de l'Institut Pasteur*

(Docteur PAUL GIROUD).

BIBLIOGRAPHIE

1. ALDANA (L.). — Bacteriologia de la Enfermedad de Carrión. Tes Bach. *Crón. Med. Lima*, 1929, 46, 235, Lima, Perú.
2. ALDANA (L.). — Estado actual del tratamiento de la Enfermedad de Carrión por la penicilina. *Rev. Med. de Polic.*, 1946, 6, 35, Lima, Perú.
3. ALDANA (L.). — Acción de la estreptomycin en la Enfermedad de Carrión. *Reim. Ref. Rev. San. Pol.*, Lima, 1947, 7, 387.
4. BATTISTINI (T.). — Contribución al estudio de la verruga peruana. Cultivo de la *Bartonella bacilliformis*. *Ana. Fac. Med. Lima*, 1927, 10, 243.

5. BATTISTINI, MORE, MUNOZ, PUGLISEVICH (J.), TISNADO MUNOZ (S.). — Acción *in vitro* de la estreptomycina sobre la *Bartonella bacilliformis*. *Arch. Peruanos Path. Clin.*, 1947, 1, 663.
6. BOVARNICK (J.). et SNYDER (J.). — Influences of certain salts, amino acids, sugars and proteins on the viability of Rickettsiae. *J. Exp. Med.*, 1950, 59, 509-522.
7. FLOSDORF (E. W.), STOKES (F.) et MUDD (S.). — *J. Amer. Med. Ass.*, 1940, 115, 1095.
8. FLOSDORF (E. W.) et MUDD (S.). — *J. of Immun.*, 1938, 34, 469.
9. HERRER (A.). — Supervivencia de la *Bartonella bacilliformis* en la sangre coagulada de los enfermos de verruga. *Rev. J. Med. Exp.*, Lima, 1948, 7, 70-74.
10. SYMPOSIUM JUNE 1951. — Freezing and drying. The Institute of Biology, Tavistock House South, Tavistock Square, London W.C.1. (1951) Mac Farlane.
11. MERINO (C.). — Efectos de la penicilina en un caso de fiebre grave de Carrión. *Gaceta Med.*, Lima, 1944, 1, 28.
12. NOGUCHI (H.) et BATTISTINI (T.). — Relación preliminar sobre el cultivo del microbio de la fiebre de la Oroya. *J. Exp. Med.*, 1926, 43, 851.
13. TOPPING. — The Preservation of the infectious agent of some of Rickettsiosis. *Publ. Health Rep.*, 1940, 55, 545.
14. WIGAND (R.). — Neue Untersuchungen über *Bartonella bacilliformis*, 2. Mitteilung : Verhalten gegenüber Sulfonamiden und Antibiotica *in vitro*. *Z. Tropenmed. u. Parasitol.*, 1952, 3, 453-460.

COMPORTEMENT DU LAPIN INOCULÉ AVEC LE VIRUS COLUMBIA-SK

Par GIACINTO GIACCIO (*) (**)

Au cours des premiers isolements de ce virus sur le rat du coton et la souris, JUNGBLUT et SANDERS (1940) ont cherché à obtenir la culture chez le lapin sans y réussir. En 1942, JUNGBLUT, SANDERS et FEINER ont pu constater à nouveau que ce virus n'était pas pathogène pour le lapin qui survit et produit des anticorps neutralisants. SCHULTZ et WHITE (1948) ont obtenu l'infection du hamster, mais non celle du lapin; WARREN, SMADEL et RUSS (1949) considèrent l'infection du lapin comme une infection inapparente.

Nous comparons ici le comportement du lapin nouveau-né et celui de l'adulte.

La souche (***) utilisée détermine chez la souris de 20 à 30 jours,

(*) Séance du 13 mars 1957.

(**) Nous remercions le docteur PAUL GIROUD de l'aide bienveillante et des conseils qu'il a bien voulu nous donner au cours de ce travail.

(***) Nous remercions le docteur LAURELLA McCLELLAND de l'Institut Merck de Rahway de nous avoir transmis cette souche.

après une courte incubation, une maladie mortelle se révélant par des symptômes nerveux dont le plus évident et le plus constant est celui de la paralysie des pattes postérieures. Lorsque les passages sont faits par voie sous-cutanée avec $0\text{ cm}^3\text{ }20$ de suspensions de $3/4$ de cerveau de souris dans 4 cm^3 , cette souche est virulente jusqu'à 10^{-6} - 10^{-7} .

Comportement du lapin nouveau-né. — Des lapins de 1-4 jours ont été injectés par voie sous-cutanée ou péritonéale avec $0\text{ cm}^3\text{ }30$ - $0\text{ cm}^3\text{ }40$ de mêmes suspensions qui étaient préparées, soit à partir de la souris ($3/4$ de cerveau dans 4 cm^3 d'eau physiologique), soit à partir du lapin ($1/2$ cerveau de lapin dans 2 cm^3 d'eau physiologique). Trois lapins sur 26 sont morts de 2 à 12 jours, les autres ont été sacrifiés à des jours divers (de 1 à 22 jours) après l'inoculation. Il n'a pas été observé de symptômes particuliers. Sur 26 lapins nouveau-nés, 7 ont donné un passage positif chez la souris qui présente une maladie typique, parfaitement comparable à celle des souris infectées par la souche souris. On a réalisé divers essais. Dans le premier, il s'agit d'un passage souris-lapin; 1 animal sur 5 est positif. Dans le deuxième essai, au départ de la souris on obtient 2 isollements sur lapin et ensuite on réalise un deuxième passage sur lapin à partir du cerveau d'un lapin, qui est éprouvé sur 2 lots de lapins. Dans le premier lot, 1 lapin sur 4 est positif, dans le deuxième, 1 animal est aussi positif sur 3 : le virus n'étant pas mis en évidence sur la souris au premier passage, mais au deuxième. La troisième série concerne des passages alternés de la souris au lapin ($2/3$ positifs), de celui-ci à la souris ($3/4$ positifs); après un deuxième passage souris ($4/4$ positifs), on injecte le virus à un deuxième groupe de lapins ($2/7$ sont positifs).

On peut conclure que :

1° Les lapins nouveau-nés ne font généralement pas de maladie. La mort peut, cependant, survenir entre 2 à 12 jours sans être précédée d'aucun symptôme.

2° Le virus ne semble pas avoir été modifié dans son pouvoir infectant pour la souris.

3° Le virus peut être conservé par passages successifs lapin-lapin et passages alternés lapin-souris-lapin.

4° Un lapin inoculé à l'âge de 4 jours et sacrifié 20 jours après l'inoculation, présente des anticorps neutralisants qu'on peut mettre en évidence par le test de neutralisation.

Comportement du lapin adulte. — On a utilisé 47 lapins de poids supérieur à 2 kg. 5. Ils ont été inoculés par voie sous-cutanée (8), par voie intrapéritonéale (12), intracardiaque (17), par les 3 voies simultanées — péritonéale, intramusculaire et sous-cutanée (10). Les suspensions ont été préparées avec du cerveau de souris

(3/4 de cerveau en 4 cm³ d'eau physiologique). Généralement, c'est cette suspension qu'on a utilisée; quelquefois, cette suspension a été diluée à 1 : 10. Des doses variables ont été injectées : 2 cm³, 2 cm³ 5, 3 cm³, 4 cm³, 5 cm³, 7 cm³, 10 cm³. Dans ce dernier cas, le virus a été inoculé sous différentes conditions : a) plusieurs injections par voie sous-cutanée; b) 3 injections le même jour, mais en différents points (intrapéritonéale, intramusculaire, sous-cutanée); c) en une seule injection par voie intracardiaque.

Aucun symptôme n'a été observé. Cependant, la mort de 17 lapins est survenue sans aucune manifestation pathologique apparente, la mort s'échelonnant, sans aucune régularité, du 5^e au 31^e jour de l'inoculation.

L'inoculation du virus dans la peau épilée n'a déterminé aucune réaction dermique nodulaire au plus on a pu observer de très légères réactions hyperémiques.

Des températures supérieures à 40° ont été observées chez 2 lapins qui sont morts respectivement au 5^e et au 8^e jour; l'élévation de la température a été observée, dans ces 2 cas, pendant les 2 jours qui ont précédé la mort des animaux. D'autres lapins (3) ont aussi présenté des températures supérieures à 40°; l'un d'eux avait 40°1 le 18^e jour et a été sacrifié le jour suivant (le 19^e) encore bien portant : la température était ce jour-là, de 39°8; 2 autres lapins ont présenté respectivement une température de 40°2 (au 6^e jour); mais pendant le temps suivant de l'essai la température a été toujours inférieure à 40°, les deux animaux étant sacrifiés au 38^e jour le premier et au 44^e le deuxième. La prise de la température a été exécutée du 2^e au 22^e jour chez un groupe d'animaux, du 2^e au 30^e jour chez un deuxième groupe et du 4^e au 30^e chez le troisième groupe. Dans la première période des différents essais, la prise de température a été faite presque tous les jours, tandis que pendant les derniers jours (du 26^e au 30^e) la prise a été faite tous les 2 jours.

Divers essais ont été exécutés dans l'espoir de réaliser des passages lapin-souris avec les organes des lapins morts ou sacrifiés : 13 lapins sont utilisés : 4 morts et 9 sacrifiés (1 au 34^e et 8 au 36^e jour). Selon les cas, le broyage a été préparé avec les ganglions abdominaux, sous-cutanés, la rate, le cœur et le cerveau. Dans 1 cas (lapin sacrifié au 36^e jour) le matériel, obtenu par broyage des ganglions abdominaux et de la rate n'a déterminé aucune manifestation pathologique chez les 10 souris inoculées; après 20 jours d'observation, ces souris ont été soumises à une sévère épreuve d'immunité (0 cm³ 20 par voie sous-cutanée, dilution 1 : 100); 3 souris sur 10 ont résisté à l'épreuve, se révélant immunes. Le broyage du cerveau d'un lapin mort au 8^e jour et ayant présenté

des températures supérieures à 40° les 2 jours précédant sa mort a déterminé quelques réactions chez les souris inoculées avec ce matériel; les réactions s'accroissent dans les passages successifs : des souris se paralysent ou meurent avec des symptômes nerveux. Cependant, l'isolement reste douteux du fait que la plupart de ces souris avaient été contaminées par des bactéries, non identifiées, isolées du cerveau.

Mise en évidence du pouvoir antigène du sang de lapin adulte.

— L'inoculation du sang des lapins, injectés avec le virus, à la souris (0 cm³ 30 de sang total) ne provoque pas la maladie de la souris. En plus, dans certaines conditions, il est possible de mettre en évidence le fait que des souris peuvent manifester une remarquable résistance à l'infection d'épreuve en se révélant ainsi immunes. La prise du sang aux lapins a été exécutée par de longues périodes (du 2^e, 4^e, 6^e jour au 22^e, 36^e, 44^e jour) et régulièrement presque tous les jours. Après le prélèvement, le sang de chaque lapin est inoculé à 4 souris qui restent en observation pendant plusieurs jours (12-20 jours) et dans la suite sont éprouvées avec une infection sévère. Le sang du lapin est inoculé à la dose de 0 cm³ 30; la dose du virus choisi pour l'épreuve d'immunité a été de 0 cm³ 20 de la suspension standard (3/4 de cerveau de souris en 4 cm³ d'eau physiologique) diluée à 1 : 100, par voie sous-cutanée. Les résultats rapportés sur le tableau I, se référant aux cas les

TABLEAU I

Lapin	Prises de sang n'ayant pas provoqué l'immunité de la souris exprimées selon les jours d'inoculation.	Prises de sang ayant provoqué l'immunité de la souris exprimées selon les jours d'inoculation.
1	2, 3, 4, 5, 6, 12.	8, 10, 14.
2	2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 15.	10, 11, 12, 13, 16.
10	3, 5, 8, 15, 18.	10, 12.
13	2, 4, 6, 8, 22.	11, 13, 15, 19.
15	6, 11, 12, 13, 14, 15, 16.	9, 10, 17.
18	6, 22, 23, 32.	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 28, 30, 34, 36.
23	6, 9, 12, 19, 22, 15.	8, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 21, 23, 26.
27	6, 8, 9, 10, 11, 14, 18, 20, 22, 28, 32.	12, 13, 15, 16, 19, 23, 25, 26, 30, 34, 36.
29	2, 3, 4, 5, 6, 8, 15, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 38, 40, 44.	9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 22, 34, 36.
33	2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 19.	9, 10, 11, 13, 15, 16, 17.
37	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 16, 18, 19, 20, 26, 29, 30, 31, 33, 38, 40.	11, 15, 17, 22, 23, 24, 25, 34, 36, 44.
40	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 17.	11, 12.
42	2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 15, 19.	9, 12, 16, 17, 18.
43	2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 19, 20, 23, 24, 26, 30, 31, 33, 34, 38, 40.	11, 13, 15, 16, 17, 18, 22, 25, 44.

plus typiques, permettent de remarquer que, selon le jour du prélèvement, le sang des lapins peut provoquer l'immunité de la souris (il y a des cas où les 4 souris de chaque lot sont immunes, il y en a d'autres où seulement 1 ou 2 souris sur 4 sont immunes); mais du même animal (lapin) on peut obtenir en certains jours un produit (le sang) capable de stimuler l'immunité, tandis que, en d'autres jours, le même produit (le sang) est dépourvu de ce pouvoir immunisant.

La possibilité que les souris puissent s'être révélées plus résistantes en fonction de l'âge, car l'infection d'épreuve a été exécutée après la période d'observation (14-20 jours) à la suite de l'injection du sang des lapins, peut être exclue à la lumière de deux faits : 1) la non-régularité de la réponse à l'épreuve d'immunité par des souris de même âge ; 2) les souris beaucoup plus âgées que celles habituellement employées se révèlent aussi sensibles que les plus jeunes.

Ces résultats expérimentaux peuvent s'expliquer de deux façons : 1) variation des taux d'anticorps dans le sang du lapin ; 2) le virus circulant présenterait un affaiblissement de son pouvoir pathogène en conservant un certain degré de pouvoir antigène. La première hypothèse est moins probable ; une telle variation des taux d'anticorps serait étonnante pendant une période ainsi restreinte, alors que l'immunité constatée chez certains lots de souris serait la preuve du pouvoir infectant du virus et de la conservation du pouvoir antigène.

Un virus de petite dimension, inoculé à un animal insensible, se révèle d'une façon périodique s'alternant avec des périodes négatives. Ceci démontre qu'un seul examen est insuffisant pour détecter la présence d'un virus au cours d'une maladie inapparente, insoupçonnée, évoluant chez un animal non sensible. Ces constatations sont valables vis-à-vis de l'épidémiologie de certaines affections où la combinaison de rencontre d'animaux non sensibles avec des vecteurs possibles peut jouer un rôle d'importance capitale.

Essai de séroprotection avec le sérum de lapin. — Les sérums des lapins inoculés avec le virus Columbia-SK ont été utilisés pour des tests de neutralisation et de séroprotection.

Pour la neutralisation, on a utilisé 2 sérums : l'un provenait d'un lapin de 24 jours, inoculé 20 jours par voie sous-cutanée avec 0 cm³ 30 d'une suspension standard ; l'autre ayant été prélevé à une lapine adulte, qui, dans l'espace de 13 jours, avait reçu 5 cm³ de produit virulent en 2 injections sous-cutanées, le prélèvement étant exécuté 8 jours après la dernière injection.

Les dilutions virulentes ont été préparées en partant de la suspension habituelle du virus (3/4 de cerveau en 4 cm³ d'eau physiologique) et en utilisant comme liquide de dilution, pour le témoin,

l'eau physiologique ou le sérum de lapin non infecté, et, pour les lapins à tester, leur sérum non dilué et non inactivé. Un remarquable pouvoir neutralisant a été mis en évidence pour les sérums des lapins infectés. La neutralisation a été partielle à la dilution de 1 : 10 de virus; elle a été totale envers les dilutions de 1 : 100 et de 1 : 1.000.

Les essais de séroprévention ont été réalisés sous diverses conditions, le sérum étant injecté : *a)* avant le virus ; *b)* en même temps que le virus ; *c)* après le virus. Celui-ci a été inoculé par voie sous-cutanée à la dose de 0 cm³ 20 de la dilution à 1 : 100, préparée à partir de la suspension originaire de 3/4 de cerveau de souris en 4 cm³ d'eau physiologique. Le sérum a été injecté par voie sous-cutanée, mais dans des points différents de celui où le virus a été inoculé.

Les résultats expérimentaux sont résumés sur les tableaux II et III.

TABLEAU II

Dose Vr.	Dil. Vr.	Sol. phys.	Dose Sr.	Sr. Lap. inf.	Siège inoc.	Sr. Vr. ctp.	Sr. 3 h. après Vr.
0 cm ³ 20	1 : 100	0/10 (++)	1 cm ³	1	sc.	4/10	1/10
»	»	»	»	2	»	2/10	0/10
»	»	»	»	3	»	5/10	0/10

Vr. : virus ; Dil. : dilution ; Sol. phys. : solution physiologique ; Sr. : sérum ; Lap. inf. : lapin infecté ; inoc. : inoculation ; sc. : injection sous-cutanée ; ctp. : contemporainement ; h. : heure ; (++) : numérateur = souris survivantes et saines ; dénominateur = souris infectées.

TABLEAU III

Dose Vr.	Dil. Vr.	Sol. phys.	Dose Sr.	Sr. Lap. nif.	Sr. Lap. if.	Date prl. Sr.	Siège inoc.	Sr. 3 h. avant	Sr. Vr. ctp.	Sr. 3 h. après Vr.
0 cm ³ 20	1 : 100	0/10 (++)	1 cm ³	1			sc.			
»	»	»	»			36 ^e j. après inoc.	»	0/10	0/10	1/10
»	»	»	»		1		»	8/10	5/10	0/10
»	»	»	»		2	»	»	8/10	5/10	0/10
»	»	»	»		3	»	»	10/10	7/10	0/10
»	»	»	»		4	»	»	9/10	9/10	2/10
»	»	»	»		5	»	»	8/10	3/10	2/10
»	»	»	»		6	»	»	10/10	8/10	0/10
»	»	»	»		7	»	»	8/10	5/10	6/10

Vr. : virus ; Dil. : dilution ; Sol. phys. : solution physiologique ; Sr. : sérum ; Lap. nif. : lapin non infecté ; Lap. if. : lapin infecté ; prl. : prélèvement ; inoc. : inoculation ; h. : heure ; ctp. : contemporainement ; sc. : injection sous-cutanée ; j. : jour ; (++) : numérateur = souris survivantes et saines ; dénominateur = souris infectées.

Le sérum étant injecté après le virus (on a choisi un temps arbitraire de 3 heures entre l'inoculation du virus et l'injection du sérum), les animaux se paralysent et meurent en même temps que les témoins ; tandis que dans les lots des souris traités par le sérum, ou en même temps que l'inoculation du virus, ou avant (3 heures) l'injection du produit virulent, on observe des survivantes ; en particulier, le nombre des souris survivantes est élevé si le traitement par le sérum a été exécuté 3 heures avant le virus.

Les souris inoculées avec le sérum de lapin non infecté se comportent comme les souris témoins ; elles se paralysent et meurent à la même date.

Ces observations expérimentales permettent de mettre en lumière 2 faits : 1) l'action de prévention de certains sérums des lapins traités avec le virus ; 2) les divers comportements des souris en relation avec le temps de traitement. Cette dernière constatation appuie l'hypothèse de la rapidité de diffusion du virus Columbia-SK du siège d'inoculation et de sa localisation précoce dans les tissus électifs pour sa culture. Ces conditions sont importantes à retenir pour l'évaluation des résultats des essais avec des produits utilisables pour la chimiothérapie. Le comportement déterminé par le traitement sérothérapique est assez suggestif étant donné la spécificité du traitement qui utilise des substances particulières (anticorps).

Essais d'hyperimmunisation. — Dans le but d'évaluer le degré d'immunisation des souris survivant à l'infection d'épreuve, on a comparé le comportement des souris ayant résisté à l'épreuve soit après traitement par le sérum, soit après l'inoculation du sang total des lapins infectés par le virus Columbia-SK. La nouvelle infection d'épreuve a été exécutée dans les mêmes conditions que la première (0 cm³ 20 de la dilution à 1 : 100 du produit originaire, représenté par 3/4 de cerveau en 4 cm³ d'eau physiologique, inoculé par voie sous-cutanée).

Sur le tableau IV sont rapportés les résultats.

TABLEAU IV

Souris soumises au traitement sérothérapique ayant survécu à la 1 ^{re} infection d'épreuve.	185	Souris immunes à la 2 ^e épreuve 93/185
Souris inoculées avec le sang total de lapin infecté ayant survécu à la 1 ^{re} infection d'épreuve	79	12/79

Des souris, soumises à la 2^e infection d'épreuve, se révèlent immunes ; parmi elles, le nombre plus élevé d'animaux immuns est

constitué par les souris ayant subi le traitement sérothérapique ; l'injection de sang total des lapins infectés ne donne qu'une moindre immunité. La deuxième injection d'épreuve étant exécutée 20 jours après la première, on peut soupçonner qu'il s'agit plus d'une immunité active que passive.

CONCLUSIONS

1) Le virus peut être décelé par passage à la souris chez le lapin nouveau-né. Il ne semble pas être modifié.

2) Les lapins adultes ne font pas une maladie apparente ; ils semblent réagir à l'inoculation du virus par une affection inapparente, car l'inoculation de leur sang total provoque un certain degré d'immunité chez la souris. Ce pouvoir immunisant du sang total des lapins n'est pas constant, mais périodique chez un même animal : le sang prélevé certains jours est capable de provoquer l'immunité, tandis qu'il est dépourvu de toute action en d'autres jours. Il n'y a aucune régularité dans ces réponses. Les jours où le pouvoir immunisant est décelable s'alternent avec ceux où la recherche de ce pouvoir est négative.

3) On peut obtenir des lapins des sérums utilisables soit pour des tests de neutralisation, soit pour des essais de séroprévention.

4) Les expériences de séroprévention ont permis d'observer que le traitement avec un même sérum peut déterminer une réaction différente chez la souris inoculée avec la même dose de produit virulent selon les conditions des essais. Si le traitement sérothérapique est fait 3 heures avant l'inoculation du virus, presque toutes les souris survivent. Si les inoculations du sérum et du virus sont exécutées en même temps, un certain nombre d'animaux peut survivre, tandis que si le traitement par le sérum est fait 3 heures après l'injection du virus, toutes ou presque toutes les souris se paralysent et meurent en même temps et avec les mêmes symptômes que les témoins.

Laboratorio di Microbiologia e Chemioterapia

(docteur-professeur A. DI MARCO).

Laboratori Scientifici Farmitalia, Milano.

BIBLIOGRAPHIE

- JUNGBLUT (C. W.) and SANDERS (M.). — Studies of a murine strain poliomyelitis virus in cotton rats and white mice. *J. Exp. Med.*, 1940, 72, 407.

- JUNGBLUT (C. W.), SANDERS (M.) and FEINER (R. R.). — Studies in rodent poliomyelitis. I. Further experiments with the murine strain of SK poliomyelitis virus. *J. Exp. Med.*, 1942, 75, 611.
- SANDERS (M.) and JUNGBLUT (C. W.). — Studies in rodent poliomyelitis. II. Cultivation of the murine strain of SK poliomyelitis virus. *J. Exp. Med.*, 1942, 75, 631.
- SCHULTZ (E. W.) and WHITE (S. C.). — Infectivity of murine strain of poliomyelitis virus. *Proceed. Soc. Biol. and Med.*, 1948, 68, 266.
- WARREN (J.), SMADEL (J. E.) and RUSS (S. B.). — The family relationship of encephalomyelitis-myocarditis, SK, MM and Mengo encephalomyelitis. *J. Imm.*, 1949, 62, 389.

LES ENTÉROBACTÉRIES PATHOGÈNES A DAKAR

Par H. DARRASSE, L. LE MINOR, D. PIÉCHAUD et P. NICOLLE (*)
avec la collaboration technique
de N. PINHEDE, B. KHOURY, M. DIOP et J. BRAULT

Nous rapportons ici des résultats obtenus au laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur de Dakar, de 1954 à 1956 ; ils permettent de faire un premier « inventaire » de la flore des entérobactéries à Dakar où ce groupe d'agents infectieux joue un rôle de première importance dans la pathologie locale.

Il nous a semblé utile de souligner, d'une part le grand nombre d'entérobactéries pathogènes isolées, d'autre part la très grande diversité des variétés identifiées dans chacun des genres d'*Enterobacteriaceæ* :

Genre *Salmonella* : nous avons isolé, chez l'homme, 222 souches (205 par hémoculture) dont 179 *S. typhi* et 43 *Salmonella* diverses réparties en 22 sérotypes différents ; par ailleurs une très succincte prospection chez l'animal nous a permis d'isoler 9 sérotypes différents de *Salmonella*. Au total nous avons trouvé 28 sérotypes différents de *Salmonella* (dont 3 non décrits).

Genre *Shigella* : nous avons isolé 302 souches d'origine humaine, dont 205 *Shigella flexneri*, et 95 souches variées correspondant à 22 types différents de *Shigella*.

Genre *Escherichia* : nous avons isolé 39 souches d'*E. coli* appartenant au groupe des gastro-entérites infantiles, avec une très forte prédominance d'*E. coli* 55 : B5, mais comprenant aussi quelques 111 : B4 et 26 : B6.

Nous passerons rapidement en revue les différentes variétés trouvées dans chacun des genres, en essayant d'en tirer les déductions épidémiologiques possibles.

(*) Séance du 13 mars 1957.

I. — GENRE « SALMONELLA »

A. — *Salmonella* d'origine humaine.

Ces souches humaines sont classées dans le tableau I, par ordre de fréquence, et avec l'indication du produit biologique dont elles furent isolées :

TABLEAU I

Types identifiés de <i>Salmonella</i>	Nombre de souches	Origine		
		Hémoculture	Coproculture	Divers
<i>Salmonella typhi</i>	179	177	1	1 (pus otite)
<i>S. typhi murium</i>	8	6	2	
<i>S. kunitzendorj</i>	7	7		
<i>S. paratyphi</i> C	4	4		
<i>S. enteritidis</i>	4	4		
<i>S. anatum</i> (v. spécifique)	2		1	1 (L. C. R.)
<i>S. tel-el-kebir</i>	2		2	
<i>S. paratyphi</i> A	1	1		
<i>S. paratyphi</i> B	1	1		
<i>S. brandenburg</i>	1	1		
<i>S. montevideo</i>				1 (abcès du poumon)
<i>S. oranienburg</i>	1	1		
<i>S. virchow</i>	1		1	
<i>S. kottbus</i>	1		1	
<i>S. saarbruecken</i>	1		1	
<i>S. durban</i>	1		1	
<i>S. dublin</i>	1	1		
<i>S. london</i>	1	1		
<i>S. give</i>	1		1	
<i>S. rubislaw</i>	1		1	
<i>S. friedenau</i>	1		1	
<i>S. dakar</i>	1		1	
<i>S. kaolack</i>	1	1		(L. C. R.)
23 sérotypes	222	205 (*)	14	3

(*) Ces 205 hémocultures positives à *Salmonella* proviennent d'un total de plus de 2.000 hémocultures pratiquées durant cette période (1954-1956) à l'Institut Pasteur de Dakar (24). On peut donc estimer à près de 10 o/o le pourcentage des hémocultures positives à *Salmonella*; l'ensemble des autres hémocultures positives à d'autres germes pathogènes est inférieur à cette proportion de 10 o/o.

Nous donnerons rapidement quelques précisions intéressant chacun de ces sérotypes de *Salmonella*, en suivant pour cette étude l'ordre du schéma de KAUFFMANN-WHITE :

1) Groupe A 1 souche.

S. paratyphi A. 1 souche.

Ce germe n'a été trouvé qu'une seule fois, par hémoculture chez un adulte africain; c'est une variété rare à Dakar. Au cours de nombreux séro-diagnostic effectués au cours de ces deux années nous n'avons pas non plus trouvé, chez des malades présentant un syndrome typhoïdique, d'agglutinines anti *S. paratyphi* A. Ce type paraît bien exceptionnel à Dakar.

2) Groupe B 1 souche.

S. paratyphi B : 1, 4, 5, 12 : 6 : 1, 2 1 souche isolée par hémoculture, le 25-11-55, chez un enfant européen (souche 218 A).

C'est la seule souche de para B véritable que nous ayons isolé à Dakar en près de trois années, et la très grande rareté de ce type en A. O. F. nous a fait penser qu'il s'agissait d'une souche importée : cet enfant était arrivé de France quelques semaines auparavant, et le lysotype de la souche isolée se révéla être le type Dundee; une poussée de para-typhoïde B à lysotype Dundee était précisément observée en France à cette même époque et il y a tout lieu de penser que ce cas particulier avait pour origine une contamination faite en France.

S. typhi murium : 1, 4, 5, 12 : 2 : 1, 2. 8 souches.

Ce type, que nous avons trouvé avec une très grande fréquence chez les rongeurs à Dakar, est assez souvent en cause dans la pathologie humaine locale : nous l'avons toujours rencontré chez le nourrisson, ou le très jeune enfant; il s'agissait de syndromes typhoïdiques graves et ce germe fut isolé 6 fois sur 8 par hémoculture. Il n'y eut qu'un seul décès (un nourrisson chez lequel *S. typhi murium* fut isolé à la fois du sang et d'une collection suppurée mastoïdienne) et nous n'avons pas observé d'épidémies de crèche. Tous ces cas étaient sporadiques, sans lien épidémique entre eux.

S. brandenburg : 4, 12 : 4, 5 : 1, 7. 1 souche isolée par hémoculture chez un enfant de 11 ans présentant une symptomatologie de fièvre typhoïde.

3) Groupe C 15 souches.

S. paratyphi C : 6, 7, Vi : c : 1, 5. 4 souches.

Toutes les quatre furent isolées par hémoculture, dans des syndromes typhoïdiques fréquemment accompagnés d'ictère.

La souche 52 A présente la particularité d'être une variété O + Vi,

sans antigène H et immobile. Ses caractères biochimiques sont typiques.

S. kunzendorf : 6, 7 : — : 1, 5. 7 souches.

Les sept souches furent également toutes isolées par hémoculture, dans des affections septicémiques graves, à symptomatologie typhoïdique, et non dans des intoxications alimentaires proprement dites; l'association d'un ictère est également fréquente. On observa deux décès, dont un nourrisson.

Ce groupe C est donc relativement fréquent à Dakar en pathologie humaine, et nous avons souvent mis son rôle en évidence chez d'autres malades par séro-diagnostic.

S. montevideo : 6, 7 : g, m, s.

Isolée d'un abcès du poumon, *post mortem*, en association avec *Klebsiella pneumoniae*, chez un adulte africain.

S. oranienburg : 6, 7 : m, t.

Isolée par hémoculture dans une affection typhoïdique sévère chez un adulte européen; le séro-diagnostic, avec la suspension para-C standard donnait : CO : 1/800, CH : 0 et avec la souche du malade les résultats étaient : O : 1/200 et H : 1/800. Ceci démontre bien la spécificité du séro-diagnostic qualitatif et la nécessité d'utiliser des souches de bonne valeur antigénique (le titre O est ici supérieur avec la souche standard sélectionnée pour séro-diagnostic qu'avec la souche du malade, de moins bonne valeur antigénique; par contre les agglutinines H ne sont mises en évidence qu'avec la souche homologue).

S. virchow : 6, 7 : r : 1, 2 1 souche isolée par coproculture chez un adulte africain, au cours d'une affection entérique trainante; le séro-diagnostic O et H fortement positif confirmait bien le rôle pathogène de ce germe chez ce malade.

S. kottbus : 6, 8 : eh : 1, 5 1 souche isolée par coproculture chez un enfant présentant un syndrome typhoïdique grave, température à 40°,4; le séro-diagnostic, fait 12 jours plus tard, donnait des résultats indiscutables : avec la suspension para-C standard O : 1/80 H : 0 avec la souche du malade : O : 1/400 H : 1/5.000.

4) Groupe D 186 souches.

S. typhi : 9, 12, Vi : d. 179 souches.

On voit par ce chiffre que ce groupe représente à lui seul 80 o/o des *Salmonella* isolées chez l'homme et que l'endémie à *S. typhi* est importante à Dakar.

Toutes nos souches étaient Vi +; beaucoup étaient immobiles à

l'isolement et inagglutinables par le sérum polyvalent : nous signalons ce fait dans un but pratique, pour souligner l'importance d'avoir toujours à sa disposition un sérum anti-Vi qui permettra d'identifier sérologiquement *S. typhi* (en forme V, très peu mobile) chez une culture qui en présente les caractères biochimiques, sans attendre les subcultures nécessaires pour faire apparaître la mobilité et les agglutinations O et H.

L'étude lysotypique de ces souches nous a apporté plusieurs renseignements intéressants, et l'un de nous (19) a déjà fait connaître la répartition géographique des différents lysotypes de *S. typhi* et montré la prédominance à Dakar des lysotypes E₁ (environ 50 o/o) et A (plus de 20 o/o).

Les souches du lysotype A présentent à Dakar la particularité d'être du chimiotype II de Kristensen (xylose et arabinose négatifs), alors que ce lysotype est habituellement du chimiotype I ; les souches du lysotype E₁ sont, par contre toujours du chimiotype I de Kristensen (xylose + et arabinose —), ce qui est la règle générale.

Si ces deux lysotypes sont les plus fréquents, on en rencontre également un certain nombre d'autres ; l'intérêt épidémiologique de la méthode reste donc entier pour Dakar, alors qu'il aurait été beaucoup moindre dans le cas d'une uniformité monotone des types phagiques, telle qu'elle semblait ressortir des premières recherches effectuées : c'est ainsi que les types C₁, D₁ et le groupe I + IV sont assez fréquemment rencontrés ; le type C₄, récemment créé aux Etats-Unis par WILSON et EDWARDS fut identifié 7 fois sur un lot de 35 souches.

Le lysotype C₃ (ancien type C₂), fut rencontré à plusieurs reprises, mais chaque fois l'enquête établit que les malades provenaient tous de Casamance (région éloignée de Dakar et voisine de la Gambie anglaise) ; il semble bien qu'il existe là un foyer très particulier caractérisé par un lysotype différent de ceux habituellement rencontrés à Dakar.

Le lysotype J a été trouvé une fois, alors qu'il est inconnu à Dakar, mais l'enquête a montré qu'il s'agissait d'un enfant arrivé de France 14 jours avant le début clinique de la maladie, par avion avec escale au Maroc : il semble que cette escale soit responsable de la contamination puisque ce lysotype est présent dans cette région.

Nous avons groupé dans le tableau II les différents lysotypes de *S. typhi* identifiés en A. O. F. depuis 1950, sur un total de 211 souches, en indiquant les pourcentages respectifs de chaque lysotype :

TABLEAU II

Lysotypie de S. typhi en A. O. F. de 1950 à 1956 ()*

Lysotype	Nombre	o/o
A.	65	30,80
C ₁ (var. ubiq.)	11	5,21
C ₃	3	1,42
C ₄	7	3,31
D ₁	13	6,16
D ₂	6	2,84
E ₁	81	38,38
J.	1	0,47
N.	2	0,94
I + IV	17	8,05
n. c.	5	2,16
Total.	211	100,00

Il est intéressant de noter que toutes les souches du lysotype C₁, isolées à Dakar appartiennent à la variété ubiquitaire, alors que l'immense majorité des souches de même lysotype isolées en A. E. F., au Congo Belge et à Madagascar donnent les réactions de la variété centre africaine de ce lysotype (20). Il y a donc quelques raisons de penser que le lysotype C₁ qui existe à Dakar a été importé d'Europe où il est extrêmement fréquent, tandis que la variété centre africaine paraît autochtone en A. E. F. et au Congo Belge.

On sait qu'il est possible de déterminer, par une lysotypie complémentaire (21), des sous-types à l'intérieur du lysotype A, et nous indiquons les résultats de ces identifications pour 57 souches A dans le tableau III.

TABLEAU III

Sous-types du lysotype A identifiés à Dakar.

Sous-type	Coquilhatville	Montréal	Tananarive	Douala	n. c.	Total
Nombre	2	1	19	24	11	57

(*) Travail commencé par R. KOEHLER (†) à l'Institut Pasteur de Dakar en collaboration avec le Service du Bactériophage de l'Institut Pasteur de Paris.

On voit que les deux sous-types les plus fréquents à Dakar sont le type Douala, surtout rencontré en Afrique Noire, et le type Tananarive qui est ubiquitaire et très répandu dans le monde.

Il ressort de ces deux tableaux que nous avons trouvé à Dakar pour *Salmonella typhi* 10 variétés lysotypiques différentes et 4 sous-variétés.

Ces quelques faits (jointes à l'exemple que nous avons cité pour *S. paratyphi* B), sont une preuve de l'intérêt épidémiologique, à Dakar comme ailleurs, de l'identification lysotype de *Salmonella typhi* : cette technique nous a permis de conclure à une endémie importante à Dakar (due à de nombreux germes locaux de types variés et à quelques germes importés) et à l'absence actuelle d'épidémies vraies, du type hydrique, dues à un seul germe.

On verra dans le tableau récapitulatif IV, où nous avons groupé *S. typhi* et les autres salmonelles, car leurs incidences sont peu différentes, que l'infection typhique est surtout rencontrée chez l'Africain et qu'elle est particulièrement fréquente chez l'enfant, où le taux de mortalité est assez impressionnant.

Il faut aussi noter que le chiffre de 179 cas de fièvre typhoïde rapporté correspond aux seuls cas où le germe a pu être isolé et qu'il ne rend pas un compte exact de l'endémie typhique à Dakar : un nombre important de cas a aussi été décelé par des séro-diagnosics appuyant un contexte clinique.

La pratique du séro-diagnostic Vi (en utilisant des suspensions préparées suivant la technique d'ANDO et NAKAMURA (3) ne nous a pas apporté les bénéfices que nous espérions : si cette sérologie est très utile chez les porteurs de germes elle nous paraît d'un moindre intérêt chez les malades : dans des cas de typhoïdes traitantes, à rechutes confirmées par une hémoculture positive, nos séro-diagnosics Vi tardifs furent négatifs et en contradiction avec la clinique ; il est vraisemblable que le traitement par le chloramphénicol intervient dans l'apparition des agglutinines Vi. Il nous semble prudent de ne pas donner à cette épreuve la valeur d'un « test de guérison » et de se garder de conclure à la « stérilisation » d'un malade lorsque son séro-diagnostic Vi reste négatif.

La même déception chez les malades traités par les antibiotiques nous a été donnée par les coprocultures dès la fin du traitement, souvent considérées comme test de guérison : il est certain que, surtout dans le cas d'une antibiothérapie par la voie digestive (de règle dans les affections typhiques) on peut avoir une stérilisation du contenu intestinal, et des coprocultures négatives, mais qu'il peut subsister d'autres réservoirs microbiens (vésiculaire, ganglionnaires, ou autres) susceptibles de provoquer des rechutes.

Il nous paraît raisonnable de conclure que, si dans le cas des

porteurs sains de *S. typhi* les résultats de laboratoire sont de première importance et irremplaçables, avec la coproculture et le séro-diagnostic Vi, ils sont souvent faussés dans le cas du contrôle des malades traités par les antibiotiques.

Enfin, nous avons pratiqué la recherche de la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* (méthode des disques) pour 100 souches de salmonelles isolées chez des malades : nous avons toujours trouvé, *sans exception*, et avec des images sur boîtes de Petri rigoureusement superposables, une grande sensibilité au chloramphénicol et à la streptomycine, même lorsqu'il s'agissait de souches isolées pour la deuxième fois dans des cas résistant cliniquement au traitement ; par contre la sensibilité *in vitro* à l'auréomycine et à la terramycine est beaucoup moindre et les colonies secondaires résistantes sont fréquentes ; comme on pouvait s'y attendre la résistance à la pénicilline est toujours totale.

S. enteritidis : 1, 9, 12 : *gm.* . . . 4 souches furent toutes isolées par hémoculture, trois fois chez le nourrisson ou très jeune enfant et une fois chez l'adulte ; il s'agissait toujours d'infections typhoïdiques cliniquement graves. Toutes les souches étaient biochimiquement des *S. enteritidis* vraies.

Une des souches fut difficile à identifier, l'antigène 9 n'ayant pu être mis en évidence qu'après plusieurs repiquages, comme si ce germe possédait un antigène d'enveloppe.

Le nombre d'infections humaines par *S. enteritidis*, surtout chez l'enfant, est certainement assez élevé à Dakar car nous avons pu en déceler un nombre plus grand par séro-diagnostic que celui donné par les souches isolées. Enfin nous signalons plus loin que ce germe est très répandu chez les rongeurs à Dakar.

S. saarbruecken : 1, 9, 12 : *a* : 1, 7. . . 1 souche isolée par coproculture chez un enfant africain, en fin de traitement d'une fièvre paratyphoïde avec ictère : le germe isolé par hémoculture (n° 52 A) était *S. paratyphi* C Vi +, immobile, sans antigène H ; le séro-diagnostic était positif en CO seulement et il est resté négatif, à deux reprises, avec la souche *S. saarbruecken* isolée du malade.

Il est donc logique de penser que dans ce cas il s'agissait d'un porteur de germe et non d'une infection vraie à *S. saarbruecken* ; il est à noter que ce sérotype a été décrit très récemment.

S. durban : 9, 12 : *a* : *e, n, z* : 15. . . 1 souche isolée par coproculture chez un enfant atteint d'entérite fébrile, avec température à 40° et signes généraux qui n'ont rétrocedé qu'après thérapeutique au chloramphénicol.

S. dublin : 1, 9, 12 : *gp.* . . . 1 souche isolée par hémoculture chez un adulte africain au cours d'un syndrome typhoïdique grave.

5) Groupe E 4 souches.

S. anatum : 3, 10 : *eh* (var. spécifique). 2 souches.

Une souche fut isolée à l'état pur du liquide céphalo-rachidien purulent, contenant des bacilles gram-négatif à l'examen direct, d'un enfant africain mort de méningite quelques heures après son admission à l'hôpital.

L'autre fut isolée par coproculture chez un adulte africain atteint de diarrhée fébrile (39°5) avec céphalées et rachialgies; guérison simple sans antibiotiques; les séro-diagnostic, avec la souche du malade, étaient positifs au 1/160 en suspension O et au 1/640 en suspension H, ce qui confirme le rôle du germe dans l'affection observée. L'enquête épidémiologique n'a pas mis en évidence de relation, entre ces deux cas, pourtant presque concomitants.

On est frappé par la différence d'évolution de ces deux cas, qui s'inscrit bien dans l'ensemble de nos observations sur les salmonelloses : gravité habituelle et infection générale chez l'enfant, bénignité relative chez l'adulte.

La structure antigénique de ces deux souches identiques est très particulière puisqu'il lui manque la phase 2 (1, 6) de l'antigène H de *S. anatum*. De nombreux passages sur gélose additionnée de sérum anti *eh* n'ont pas fait apparaître la phase 2. Le diagnostic de *S. anatum* a été posé sur les caractères biochimiques (inositol-glycérol-stern +) ce qui distingue *S. anatum* des 5 autres sérotypes ayant la formule III. X : *eh*. KAUFFMANN (14) pense que, sans être un type nouveau, elles doivent être considérées comme une variété spécifique de *S. anatum*.

S. london : 3, 10 : *l, v* : 1, 6. 1 souche isolée par hémoculture chez un adulte européen au cours d'une affection cliniquement typhoïdique.

S. give : 3, 10 : *l, v* : 1, 7. 1 souche isolée par coproculture chez un nourrisson de 15 jours atteint de gastro-entérite fébrile grave.

6) Groupe F. 1 souche.

S. rubislaw : 11 : *r : e, n, x* 1 souche.

Coproculture chez un enfant européen présentant un syndrome typhoïdique accompagné de diarrhée.

7) Groupe G 3 souches.

S. friedenau : 13, 22 : *d* : 1, 6 1 souche isolée par coproculture chez un nourrisson africain présentant diarrhée fébrile profuse et toxicoïse; décès.

S. tel-el-kebir : 13, 23 : *d* : *e*, *n*, *z* : 15. 2 souches.

Toutes les deux isolées par coproculture dans des diarrhées fébriles suivies de guérison. Rappelons qu'il s'agit d'une souche très récemment décrite.

8) Nouveaux types 2 souches.

S. dakar : 28 : *a* : 1, 6 1 souche.

Nous avons rapporté par ailleurs (9) l'observation et l'identification complètes de cette souche : elle a été isolée par coproculture chez un enfant africain convalescent de fièvre typhoïde (confirmée par une hémoculture positive à *S. typhi*) traitée par le chloramphénicol ; les examens sérologiques avec *S. dakar* ne purent malheureusement être pratiqués chez le malade pour pouvoir mettre en évidence la réalité d'une infection mixte.

S. kaolack : 47 : *z* : 1, 6. 1 souche.

Nous avons déjà relaté (15) l'impressionnante observation de ce nourrisson de deux mois chez lequel ce germe fut isolé à 8 reprises différentes, en l'espace de plusieurs semaines ; 1 fois du sang, 6 fois du liquide céphalo-rachidien ou des liquides péricérébraux et 1 fois de pus otitique. Malgré cette longue évolution due à une résistance particulière aux antibiotiques (qui n'apparaissait pas *in vitro* avec la souche isolée chez le malade) l'enfant guérit sans séquelle apparente.

L'antigène O 47 de *S. kaolack* n'est pas absolument identique à l'antigène O 47 de *S. bergen*, aussi KAUFFMANN (14) propose-t-il de désigner celui de *S. bergen* par 47 *a*, 47 *b* et celui de *S. kaolack* par 47 *a*, 47 *c*.

TABLEAU IV

Répartition des cas de salmonelloses humaines et mortalité.

	Africains		Européens		
	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Total
Cas	100	81	15	26	222
Décès	8	19	0	0	27
o/o décès. . . .	8	25	0	0	12

On voit, comme nous l'avons déjà signalé à propos de *S. typhi* que les salmonelloses sont plus fréquemment rencontrées chez l'Africain que chez l'Européen et surtout que la moitié du total des cas intéresse des nourrissons ou de très jeunes enfants ; cette très grande fréquence des salmonelloses chez l'enfant mérite d'être soulignée.

Le taux de mortalité, qui est dans l'ensemble assez important (12 0/0) est, dans nos résultats, très élevé chez l'enfant africain (25 0/0). Ceci est explicable quand on sait que ces enfants présentent souvent d'autres affections détériorant le « terrain » (malnutrition en particulier) et que, souvent aussi, ils sont hospitalisés dans un état grave à un stade très tardif de la maladie. Nous avons constaté, avec une fréquence nettement supérieure aux données classiques, la positivité simultanée de l'hémoculture et du séro-diagnostic ; ceci peut être attribué à la prolongation de la septicémie dans les formes graves. Il faut aussi tenir compte de la précocité de la réponse d'un séro-diagnostic qualitatif, qui peut donner des réponses positives dès le 6^e jour de la maladie clinique, surtout *en milieu non vacciné*. Pour ces raisons nous pratiquons systématiquement hémoculture et séro-diagnostic en même temps pour les malades suspects d'infections typhiques, et il nous arrive parfois d'avoir ainsi un résultat plus rapide par séro-diagnostic que par hémoculture.

B. — *Salmonella d'origine animale.*

Nous n'avons pas effectué de recherches systématiques importantes mais les quelques faits que nous avons pu observer sont en faveur de la très grande fréquence des *Salmonella* dans le domaine animal à Dakar.

1) *Animaux de laboratoire.*

Nous avons isolé, un très grand nombre de fois, chez les petits animaux de laboratoire, *S. typhi murium* et *S. enteritidis*.

S. typhi murium. — Nous avons déjà signalé ailleurs (8) l'importance de cette *Salmonella* chez l'animal à Dakar et son incidence en pathologie humaine.

L'animal de laboratoire supporte en général assez bien cette infection à l'état latent, et c'est sous la forme de « germe de sortie », provoquée par l'inoculation à l'animal d'un produit biologique quelconque, que cette *Salmonella* apparaît le plus souvent. C'est donc une cause possible, et bien connue, d'erreur expérimentale et nous signalons en particulier les rates de cobayes d'allure « pseudo-

tuberculeuse » que nous avons vues chez des cobayes inoculés pour recherches de bacille de Koch : ni le *B. K.*, ni *Pasteurella pseudo-tuberculosis* (que nous n'avons jamais pu mettre en évidence à Dakar), n'étaient en cause et il s'agissait de multiples abcès spléniques à *S. typhi murium*, vérifiés bactériologiquement et histologiquement.

S. enteritidis. — Cette *Salmonella* est également très fréquente chez les animaux de laboratoire, souris et cobayes. Comme pour *S. typhi murium*, on constate une recrudescence de l'enzootie dans les élevages au moment de la saison chaude et humide, de juillet à octobre, et les expérimentations demandent alors une vigilance particulière; nous avons, en partie, évité ces inconvénients en vaccinant préventivement, avant l'« hivernage », nos animaux d'expérience au moyen d'un vaccin mixte préparé avec des souches locales de *S. typhi murium* et *S. enteritidis*.

*Toutes nos souches étaient biochimiquement des *S. enteritidis* et non une des variétés mais parmi le grand nombre de souches isolées nous voulons en signaler deux très particulières qui étaient des variétés « agazogènes ».

Ces deux souches furent isolées chez la souris blanche, à plusieurs mois d'intervalle l'une de l'autre; le diagnostic rapide, par les seuls caractères biochimiques et l'agglutination par le sérum anti-Eberth O + H pouvait induire en erreur en concluant à *S. typhi*. Peu de chose, en effet, sépare cette variété agazogène de *S. typhi* et l'isolement de telles souches chez l'homme, pourrait lors d'une identification trop rapide, prêter à des erreurs de diagnostic.

Cette variété de *S. enteritidis*, fermentant les différents sucres sans production de gaz, a déjà été décrite par R. A. BRUCE et H. E. DESCOMB en 1943 aux Etats-Unis (4), où ces auteurs isolèrent 9 souches de *S. enteritidis* non gazogènes chez le rat blanc de laboratoire et chez le rat sauvage. De telles variantes agazogènes peuvent se rencontrer dans d'autres types. L'un de nous en a signalé chez *S. dublin* (18). Ces variantes nous paraissent surtout intéressantes par leur ressemblance biochimique avec *S. typhi* et par les problèmes qu'elles peuvent suggérer du point de vue phylogénie et adaptation des espèces.

2) Prospection chez le Porc.

La fréquence des salmonelloses à Dakar, chez l'homme et chez les animaux de laboratoire, nous a conduit à entreprendre des recherches systématiques, que nous regrettons de n'avoir pas eu le temps de réaliser sur une plus vaste échelle.

Nous avons recherché des *Salmonella* dans les ganglions mésentériques du porc, prélevés à l'abattoir de Dakar (*); il s'agissait toujours de porcs sains, contrôlés et destinés à la consommation, et ceux chez lesquels une *Salmonella* a été isolée doivent donc être considérés comme des simples porteurs de germes.

Sur un total de 50 porcs ainsi examinés nous en avons trouvé 10 dont les ganglions mésentériques renfermaient une *Salmonella*, soit une proportion très importante de 20 0/0 de porteurs de germes.

La répartition des types de *Salmonella* isolés, le plus souvent en culture très abondante, après passages en milieu de Muller-Kauffmann et isolement sur milieu S-S, était la suivante :

Groupe B; 1 souche.

S. bredeney : 1, 4, 12, 27 : *t*, *v* : 1, 7 . . . 1 souche.

Groupe C : 5 souches.

S. kunzendorf : 6, 7 : — : 1, 5 . . . 3 souches.

S. vinchow : 6, 7 : *r* : 1, 2 . . . 2 souches.

Groupe I; 1 souche.

S. salford : 16 : *l*, *v* : *e*, *n*, *x* . . . 1 souche.

Autres groupes : 1 souche.

S. mgulani : 38 : *i* : 1, 2 . . . 1 souche.

Nouveau type : 1 souche.

S. thiaroye : 38 : *e*, *h* : 1, 2 . . . 1 souche.

Nous avons rapporté par ailleurs (16) la description et l'identification complète de ce nouveau sérotype de *Salmonella*.

Ces brefs résultats nous montrent déjà la prédominance du groupe C chez le porc et il est intéressant de noter que nous avons signalé plus haut l'importance de ce même groupe en pathologie humaine, en particulier de *S. kunzendorf* que nous retrouvons 3 fois sur 10 chez le porc.

Cette très rapide investigation nous montre donc que l'on retrouve dans le domaine animal la même abondance de *Salmonella*, et la même variété de sérotypes, que celles rencontrées en pathologie humaine. Il est important de souligner que, le bacille d'Eberth mis à part, les *Salmonella* les plus fréquentes chez

(*) Nous remercions très vivement ici M. TIDORI, vétérinaire à Dakar, qui nous a apporté, une fois de plus, son efficace collaboration.

l'homme à Dakar sont aussi celles que l'on rencontre le plus souvent chez l'animal : *S. typhi murium*, *S. enteritidis*, *S. kunzendorf*.

CONCLUSIONS

De l'ensemble de ces résultats de laboratoire il est possible de tirer quelques conclusions :

1) Le genre *Salmonella* est abondamment représenté à Dakar, avec de très nombreuses souches isolées comprenant 28 sérotypes différents (dont 3 sérotypes nouveaux) et une variété anaérogène de *S. enteritidis* et une variété spécifique de *S. anatum*.

Ces résultats sont bien en accord avec les recherches de E. VAN OYE au Congo Belge (22) et de MacKEY (17) au Tanganyika, et contribuent à démontrer la très grande richesse du continent Africain en *Salmonella*.

2) *Salmonella typhi* (bacille d'Eberth) est responsable de 80 o/o des salmonelloses humaines à Dakar ; il n'a pas été constaté de véritables épidémies, du type hydrique, mais des cas sporadiques et de petits foyers localisés ; l'étude lysotypique des souches isolées a apporté des renseignements épidémiologiques importants.

Enfin cette affection est plus fréquente chez l'Africain que chez l'Européen et revêt souvent une gravité particulière chez l'enfant africain en raison du terrain sur lequel elle évolue.

3) Les autres salmonelloses humaines, plus sévères cliniquement chez l'enfant que chez l'adulte, sont dues le plus souvent aux *Salmonella* les plus fréquemment rencontrées chez l'animal à Dakar (*S. typhi murium*, *S. enteritidis* et *S. kunzendorf*).

Il ne fut pas constaté d'épidémies, et les cas sporadiques observés sont rarement des intoxications alimentaires *sensu stricto* mais semblent généralement dus à des contaminations favorisées par les conditions d'hygiène de l'habitat, conditions qui permettent souvent en milieu africain la contamination des aliments, ou du sol (où jouent les enfants), par les déjections des animaux porteurs de germes. Il est même surprenant que le taux d'infections humaines par ces *Salmonella* soit relativement si peu élevé, alors qu'elles sont si fréquentes chez l'animal et que les conditions d'hygiène favorisent ces contaminations.

L'ensemble des résultats démontre bien la gravité particulière des salmonelloses chez le nourrisson et le jeune enfant, telle que l'a définie HORMAËCHE dans la classique « doctrine de Montevideo ».

Mais le petit nombre d'infections humaines comparé au très

grand nombre de *Salmonella* animales répandues dans le milieu environnant doit nous faire accepter le principe de la « multivalence des salmonelles » avec certaines réserves : cette multivalence est manifeste dans les intoxications alimentaires, qui réalisent des *inoculations massives* ou dans certaines conditions épidémiologiques très particulières (épidémies de crèche, puits infectés), mais, dans les conditions naturelles, le passage d'une *Salmonella* animale à l'homme reste un phénomène rare ; ce passage est possible mais il doit être considéré comme accidentel et reste en dehors du cycle épidémiologique normal de cette *Salmonella* dont le vrai domaine reste animal.

Dans ce vaste domaine des *Salmonella* il est certain que la règle biologique générale du parasitisme, celle de l'adaptation du parasite à l'hôte, doit rester valable et nous en trouvons le meilleur exemple dans l'adaptation stricte à l'organisme humain des *Salmonella typhi* et *para-typhi* classiques.

II. — GENRE *Shigella*

Les germes de ce groupe sont responsables de la plupart des syndromes dysentériques observés à Dakar : de 1954 à 1956 nous avons isolé plusieurs centaines de *Shigella*, alors que nous observions, à peine, quelques dizaines d'amibes dysentériques.

L'Institut Pasteur de Dakar s'est depuis longtemps intéressé à ce problème : HECKENROTH en 1915 (1), A. LEGER (1) en 1919, ont, les premiers, isolé plusieurs souches dakaroises de bacilles dysentériques. M. ADVIER (1), en 1932, frappé par l'absence de protozoaires à l'examen de nombreuses selles glairo-sanglantes envoyées au laboratoire pour recherche d'amibes, isole 20 souches de bacilles dysentériques, réparties par leurs propriétés biochimiques en trois catégories (b. de Shiga, b. de Hiss et b. de Flexner). Par la suite les rapports annuels de l'Institut Pasteur de Dakar signalent l'isolement de nombreuses souches de *Shigella* (24). Il est très certain que ce nombre de souches et de variétés eût été beaucoup plus important avec les méthodes actuelles d'isolement et d'identification des entérobactéries.

Nous avons isolé 302 souches de *Shigella*, non par une prospection systématique, mais par la simple pratique des examens de laboratoire demandés à l'Institut Pasteur de Dakar pour des syndromes dysentériques.

La quasi-totalité de ces souches provient de selles glairo-sanglantes, quelques-unes de diarrhées fébriles non sanglantes et 3 souches enfin furent isolées par hémoculture.

La répartition des différentes souches était la suivante :

Groupe Mannitol — :

<i>Sh. dysenteriae</i> 1 (b. de Shiga) . . .	12 souches
<i>Sh. dysenteriae</i> 2 (<i>Sh. ambigua</i>) . . .	25 »
<i>Sh. dysenteriae</i> 3, 4, 5, 6, 7 (Sachs) . . .	4 »

Groupe Mannitol + :

<i>Sh. flexneri</i> (1 à 6)	205 souches
<i>Sh. boydii</i> (1 à 11)	28 »
<i>Sh. sonnei</i>	21 »
<i>Shigella</i> non classées	7 »

Total	302 souches
-----------------	-------------

La prédominance du groupe Flexner est manifeste (les 2/3 des souches isolées) mais 97 souches sont réparties dans les différents autres groupes, l'ensemble constituant un nombre important de variétés.

Nous passerons rapidement en revue ces différentes catégories :

1) *Shigella dysenteriae* 1 (b. de Shiga) 12 souches.

Toutes ces souches furent isolées de cas sporadiques, sans aucun caractère épidémique, mais toujours cliniquement sévères (3 décès).

Nous avons rapporté ailleurs (10) un cas mortel où ce germe fut isolé par hémoculture.

Cette variété de *Shigella* semble, fort heureusement, peu répandue à Dakar.

2) *Shigella dysenteriae* 2 (*Sh. ambigua*) 25 souches.

Ce type est donc assez fréquent à Dakar, et ses particularités en A. O. F. ont déjà été signalées par l'un de nous (23).

3) *Shigella dysenteriae* 3, 4, 5, 6, 7 (Sachs) 4 souches.

Ce type, paraissant assez peu répandu à Dakar, a toujours été isolé par cultures de selles glairo-sanglantes chez des adultes africains, avec la répartition suivante :

<i>Sh. dysenteriae</i> 3 (Q 454)	1 souche
<i>Sh. dysenteriae</i> 4 (Q 1167)	1 »
<i>Sh. dysenteriae</i> 6 (Q 771)	1 »
<i>Sh. dysenteriae</i> 7 (Q 902)	1 »

On voit que seule la variété 5 (Q 1030) de ce groupe des Sachs n'a pas été retrouvée.

4) *Shigella flexneri* 205 souches.

Comme on pouvait s'y attendre le groupe des Flexner est de beaucoup prédominant sur les autres et renferme à lui seul les 2/3 des *Shigella* que nous avons isolées.

Nous avons mis en évidence 6 types différents de *Sh. flexneri*, du type 1 au type 6; bien que nous n'ayons fait la recherche de ces sous-types que dans un nombre restreint de cas, il apparaît que les variétés les plus répandues sont les types Flexner 2 et Flexner 3.

Il est à noter que *Sh. flexneri* a été souvent isolé dans des cas cliniquement sévères; nous avons même rapporté une observation où ce germe, par surcroît agglutinable par le sérum anti Vi, fut isolé par hémoculture chez un enfant et se montrait expérimentalement très pathogène pour les animaux de laboratoire (10).

5) *Shigella boydii* 28 souches.

Cette variété de *Shigella* semble donc assez fréquente à Dakar, et nous avons pu dénombrer, dans ces 28 souches, 9 variétés différentes de *Sh. boydii* ainsi réparties :

<i>Sh. boydii</i> 1.	3 souches
<i>Sh. boydii</i> 2.	1 »
<i>Sh. boydii</i> 3.	3 »
<i>Sh. boydii</i> 4.	1 »
<i>Sh. boydii</i> 5.	6 »
<i>Sh. boydii</i> 6.	2 »
<i>Sh. boydii</i> 8.	2 »
<i>Sh. boydii</i> 9.	1 »
<i>Sh. boydii</i> 11.	8 »

On voit que les *Sh. boydii* 5 et *boydii* 11 sont beaucoup plus fréquentes que les autres, et que seules les variétés 7 et 10 n'ont pas été trouvées.

6) *Shigella sonnei* 21 souches.

Ce type de *Shigella*, que l'on a souvent tendance à considérer comme surtout fréquent dans les pays tempérés est donc assez répandu à Dakar; mais nous devons ajouter que nos souches ont été plus souvent isolées chez l'Européen (Européens : 14 cas, Africains : 7 cas).

Les deux variétés biochimiques suivantes ont été trouvées : la variété habituelle : rhamnose + et xylose + et la variété classique rare : rhamnose + et xylose —. Enfin nous avons signalé ailleurs (10) un cas où ce germe fut isolé par hémoculture, chez un

adulte africain dans un syndrome diarrhéique fébrile sans gravité particulière.

7) *Shigella* non classées 7 souches.

Nous groupons seulement 7 souches dans cette catégorie, car nous n'avons tenu compte, à l'exclusion de tous les cas douteux, que des seules souches obtenues en cultures abondantes dans des cas cliniques indiscutables et présentant les caractères cultureux certains des *Shigella*, mais non identifiées par l'agglutination spécifique.

La majeure partie de ces souches est mannite négative et leur étude doit permettre de préciser s'il s'agit réellement de variétés nouvelles.

CONCLUSIONS

Les résultats que nous venons d'exposer brièvement, sous la forme d'une sorte « d'inventaire » des *Shigella* à Dakar, nous permettent d'émettre quelques considérations intéressant l'épidémiologie locale dans ce domaine, en insistant d'une part sur l'importance du nombre de bacilles dysentériques isolés et d'autre part sur la très grande diversité des variétés mises en évidence :

1) Nombre de bacilles dysentériques isolés au laboratoire.

Le chiffre de 302 souches identifiées ne reflète pas exactement l'importance réelle de cette endémie dysentérique à Dakar.

Si l'on considère le nombre de souches isolées chez l'Européen et chez l'Africain, on trouve les chiffres suivants, qui sont statistiquement équivalents :

Africains	167 cas
Européens.	135 »
Total :	302 cas

La population européenne de Dakar correspondant *grosso modo* au 1/10 de la population totale, ce premier résultat est donc déjà anormal.

Si par ailleurs on recherche l'origine de ces 167 cas africains, on constate que *toutes* ces dysenteries bacillaires ont été diagnostiquées dans des catégories sociales bénéficiant de la même surveillance médicale que la catégorie européenne : collectivités militaires, centres médicaux sociaux des fonctionnaires, services hospitaliers.

Notre prospection a porté, en fait, sur une seule catégorie sociale, faite d'Africains et d'Européens ; elle ne nous renseigne pas

complètement sur l'endémie véritable et sur le nombre de *Shigella* que l'on pourrait isoler dans la population africaine totale durant la même période. Il est certain que la bénignité relative de l'affection et sa sensibilité habituelle à une thérapeutique simple sont cause de la non-vérification par le laboratoire de nombreux cas de shigelloses (nous pensons en particulier à la clientèle nombreuse des dispensaires). Si l'on admet donc que nos résultats proviennent seulement d'un « échantillon » de la population totale, il est logique d'admettre aussi que le nombre total des shigelloses à Dakar est beaucoup plus important que celui évoqué par nos chiffres.

Un autre argument en faveur du « grand nombre » de *Shigella* à Dakar ressort également de nos résultats : nous avons rapporté (10) 3 hémocultures positives à des *Shigella* diverses ; on sait que c'est une éventualité rare, et il est alors logique de penser que les chances pour que cette éventualité se produise sont d'autant plus grandes que le nombre de shigelloses est plus grand.

2) Diversité des types de *Shigella* identifiés.

La grande diversité des types de *Shigella* rencontrés permet des déductions épidémiologiques intéressantes :

Nous avons dénombré 22 variétés différentes de bacilles dysentériques (sans compter les souches non identifiées) comprenant le bacille de Shiga, le bacille de Schmitz, 4 variétés du groupe des Sachs, 6 variétés du groupe des Flexner, 9 variétés du groupe des Boyd et le bacille de Sonne. La recrudescence des shigelloses en période chaude et humide est un fait annuellement observable à Dakar, de juillet à octobre ; la diversité des types bactériens rencontrés nous a permis de constater à plusieurs reprises (11) que ces « bouffées saisonnières » de dysenterie étaient le résultat de l'écllosion simultanée de cas sporadiques dus à des agents différents, et non de véritables poussées épidémiques dues au même agent infectieux.

Nous en rappellerons deux exemples :

— du 23 août 1954 au 13 septembre 1954, nous recevons :

63 selles glairo-sanglantes, pour des malades différents :

Parasites : 0 ;

Shigella : 18 souches isolées qui se répartissent en 8 variétés différentes.

L'enquête épidémiologique ne montrait aucun lien entre les différents cas, et les 8 agents infectieux différents identifiés révélaient bien qu'il s'agissait plutôt de plusieurs cas sporadiques concomitants que d'une véritable épidémie.

— le 23 septembre 1954, nous recevons :

6 selles glairo-sanglantes (malades différents) :

Parasites : 0 ;

Shigella : 3 souches correspondant à 3 variétés différentes de *Shigella*.

La notion de cas sporadiques est ici évidente :

On comprendra bien que notre but n'est pas de nier les épidémies dues aux bacilles dysentériques (nous en avons eu quelques exemples restreints dans des collectivités), mais de vouloir souligner la très grande richesse du terrain local et l'importance de l'endémie à *Shigella* : un tel nombre et une telle diversité des germes du genre *Shigella* doivent être interprétés comme un potentiel redoutable si les conditions devenaient favorables à la production d'épidémies et doivent surtout conseiller une vigilance permanente en matière d'hygiène.

III. — GENRE *Escherichia*

Nous avons déjà rapporté ailleurs (12) les premiers résultats de nos observations sur les *E. coli* des gastro-entérites infantiles à Dakar ; nous les résumerons très brièvement ici, en rappelant que nous n'avons recherché que les trois types les plus classiques : *E. coli* 55 : B5, *E. coli* 111 : B4, *E. coli* 26 : B6.

1) *E. coli* 55 : B5 35 souches.

C'est ce sérotype qui paraît de beaucoup le plus répandu à Dakar. Nous l'avons rencontré dans des épidémies de crèche, et dans des cas isolés :

— Epidémies de crèche 28 souches.

Deux épidémies de crèche, très graves, furent observées à la Maternité africaine, dans le service des prématurés, à la fin de 1953 et au début de 1954.

Sur un total de 28 cas (où la souche put être isolée par coproculture 40 fois), on eut à déplorer le chiffre très important de 18 décès. Cette mortalité très élevée s'explique davantage quand on sait que tous ces cas concernaient uniquement des nouveau-nés *prématurés* ou *débiles*, d'un poids moyen de 1 kg. 700 et il est maintenant bien établi que cet état physiologique très précaire à la naissance domine le tableau clinique de ces gastro-entérites du nourrisson (5).

— Cas sporadiques 7 souches.

6 cas isolés, décelés par coprocultures chez des nourrissons plus âgés, furent des gastro-entérites parfois sévères, mais sans revêtir

le caractère dramatique des épidémies chez les prématurés, et n'entraînèrent aucun décès.

Le septième cas nous semble particulièrement intéressant, car il s'agissait d'une diarrhée aiguë fébrile chez un adulte (13). C'est, à notre connaissance, la deuxième observation valable de *maladie naturelle* à *E. coli* des g. e. i. rapportée chez l'adulte, la première étant celle de R. BUTTIAUX et coll. (6).

Toutes les souches isolées, épidémiques ou sporadiques, sur une période de plus de deux ans, étaient bactériologiquement identiques, et présentaient uniformément le même type bactériophagique qui était le lysotype « Béthune ».

2) *E. coli* 111 : B4 2 souches.

Isolées par coproculture chez deux nourrissons africains :

Un nourrisson débile de 10 mois, atteint de gastro-entérite grave, chez qui le séro-diagnostic fut positif au 1/40 avec la souche homologa chauffée ; guérison.

Un nourrisson présentant diarrhée et toxicose ; guérison.

Le type bactériophagique était le lysotype « Bretonneau ».

3) *E. coli* 26 : B6 2 souches.

Isolées par coproculture chez deux nourrissons atteints de gastro-entérites fébriles ; pas de décès.

Le lysotype n'a pas été déterminé.

Pour ce sérotype, comme pour le sérotype 111 : B4, il s'agissait de cas isolés, séparés dans le temps et dans l'espace et sans caractère épidémique.

A côté de ces sérotypes particuliers d'*E. coli*, nous devons signaler la grande fréquence des infections humaines provoquées par le genre *Escherichia*, et plus généralement, par le grand groupe des coliformes : gastro-entérites du nourrisson avec culture pure et abondante d'*E. coli* dans les selles (qui devraient peut-être permettre d'identifier d'autres sérotypes pathogènes), mais aussi nombreuses infections générales, septicémies et méningites (à *K. pneumoniae* en particulier) dont on connaît la gravité clinique.

Nous ne pouvons pas reprendre évidemment tous ces cas particuliers, mais, pour élargir ce cadre et pour montrer l'importance de la vaste famille des entérobactériacées, dans son ensemble, dans la pathologie humaine à Dakar nous donnerons un dernier exemple, celui des germes identifiés dans les suppurations oto-antritiques chez l'enfant africain.

Pour la seule année 1955, nous avons trouvé dans ces pus d'oto-antrites les germes suivants :

Staphylocoque	16 cas
Streptocoque	15 »
Pneumocoque	4 »
<i>E. coli</i> et coliformes	34 »
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 »
<i>Proteus</i>	1 »
<i>Faecalis alcaligenes</i>	2 »
<i>Pseudomonas</i>	9 »
<i>S. typhi murium</i>	1 »
Total	87 cas

qui peuvent se condenser en :

Entérobactéries	52
Microcoques pyogènes	35
Total	87

Cette prédominance des bactéries gram-négatives sur les cocci pyogènes est, dans ce cas des oto-antrites chez l'enfant, en désaccord avec les résultats habituellement trouvés en France ; nous précisons qu'il s'agissait toujours de prélèvements au cours d'interventions chirurgicales et que les germes ainsi identifiés ont donc peu de chances d'être de simples germes associés ou de surinfection. Ces suppurations otitiques chez l'enfant, dues à des bactéries d'origine intestinale, posent un problème pathogénique très intéressant et L. AMLON (2) a signalé à Dakar cette particularité et ses rapports avec la toxicose chez le nourrisson.

CONCLUSIONS

Les *Escherichia coli* des gastro-entérites infantiles existent chez l'Africain à Dakar, où nous avons pu identifier les trois sérotypes les plus connus : 111 : B4, 55 : B5 et 26 : B6 ; il est intéressant de vérifier ainsi la grande ubiquité de ces sérotypes que l'on pensait, au début de leur découverte, surtout présents en pays froids ou tempérés. Le type le plus répandu à Dakar semble être *E. coli* 55 : B5, lysotype « Béthune », qui provoqua deux épidémies meurtrières chez des prématurés.

Par ailleurs, les germes du genre *Escherichia* du groupe coliforme en général, et plus généralement encore toutes les bactéries gram-négatives d'origine intestinale, sont très fréquemment en cause dans

la pathologie locale : nous en donnons comme exemple frappant le très grand nombre d'Entérobactéries responsable de suppurations otitiques chez le nourrisson.

RÉSUMÉ

L'importance des Entérobactéries pathogènes à Dakar apparaît dans les résultats que nous venons de rapporter et où nous soulignons plusieurs points particuliers importants :

1) Dans le genre *Salmonella* :

— Prédominance de *S. typhi*, qui est la cause de 80 o/o des salmonelloses, observées sous forme de cas sporadiques, ou de petits foyers localisés, et non de véritables épidémies du type hydrique. Le nombre important de cas isolés constitue évidemment une menace épidémiologique latente.

— Coexistence de très nombreuses variétés de *Salmonella* (28 sérotypes ont été identifiés, parmi lesquels 3 nouveaux sérotypes non décrits).

— Ces salmonelloses d'origine animale sont plus fréquentes et plus graves chez l'enfant que chez l'adulte, mais leur incidence épidémiologique paraît assez faible si on la compare aux enzooties importantes chez l'animal.

2) Dans le genre *Shigella* :

— Prédominance de *Sh. flexneri*, qui est la cause de 60 o/o des shigelloses observées,

— Coexistence de très nombreux types de *Shigella*, dont 22 sérotypes différents ont pu être identifiés, soit la presque totalité des *Shigella* connues.

— Pas d'épidémies vraies constatées, et la « bouffée saisonnière » observée à la saison chaude correspond à l'éclosion simultanée de nombreux cas sporadiques sans rapport entre eux (exception faite pour de petits foyers localisés dans les collectivités).

— L'incidence épidémiologique des *Shigella* à Dakar est très supérieure à celle des amibes dysentériques ; elle doit retenir l'attention et la vigilance des hygiénistes.

3) Dans le genre *Escherichia* :

— Les trois types classiques d'*E. coli* des gastro-entérites infantiles, 111 : B4, 55 : B5, 26 : B6, ont pu être identifiés mais le plus répandu à Dakar est *E. coli* 55 : B5 qui fut la cause de deux épi-

démies sévères dans un service de prématurés. La possibilité d'autres sérotypes responsables de gastro-entérites est à retenir.

4) Autres entérobactéries :

— Sans qu'il soit possible de passer en revue tous les cas particuliers où les entérobactéries sont en cause dans la pathologie humaine locale nous signalons la fréquence de ces infections (gastro-entérites, suppurations diverses, méningites, septicémies) et donnons comme exemple frappant la prédominance des bactéries gram-négatives dans les suppurations otitiques chez l'enfant africain.

De l'ensemble de ces résultats nous pouvons conclure à l'importance de la famille des entérobactériacées dans la pathologie infectieuse locale. Nous n'avons pas observé de véritables épidémies (mise à part une épidémie de crèche à *E. coli* 55 : B5) mais cette éventualité doit toujours être considérée comme possible et imposer une vigilance constante dans le domaine de l'hygiène.

L'ensemble de ces très nombreux cas sporadiques représente certainement un des secteurs où l'Africain est soumis, dès son plus jeune âge, aux multiples « agressions » infectieuses : il représente sans doute un des facteurs qui contribuent à établir cette hypergamma globulinémie classique de l'Africain adulte ; il représente probablement aussi, par l'apport des endotoxines bactériennes, comme le suggère R. CAMAIN dans sa remarquable étude sur la pathogénie et l'étiologie du cancer primitif du foie (7), un élément pouvant perturber profondément le métabolisme cellulaire hépatique et avoir ainsi les plus graves conséquences éloignées.

Instituts Pasteur de Dakar et Paris.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ADVIER (M.). — La dysenterie bacillaire à Dakar en 1932. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1933, 26, 664-666.
- (2) AMLON (L.). — *Bull. Méd. A. O. F.*, 1955 (Comm. Soc. Méd. de l'A. O. F.).
- (3) ANDO (K.) et NAKAMURA (Y.). — Studies on the Vi antigen of typhoid bacilli III. *Japan. J. Exp. Med.*, 1951, 21, 141.
- (4) BRUCE (R. A.) et DESCOMB (H. E.). — An anaerogenic variant of *Salmonella enteritidis* isolated from an enzootic among domestic and wild rats. *Journ. Infect. Diseases*, 1943, 72, 157-159.
- (5) BUTTIAUX (R.), NICOLLE (P.), LE MINOR (L.) et (S.) et GAUDIER (B.). — Etude épidémiologique des gastro-entérites à *Escherichia coli* dans un service hospitalier du Nord de la France. *Arch. Maladies App. digestif*, 1956, 45, 225-247.

- (6) BUTIAUX (R.), DEWAMBEZ et TACQUET. — *E. coli* des gastro-entérites infantiles dans une diarrhée grave de l'adulte. *Arch. maladies App. digestif*, 1951, 40, 1343.
- (7) CAMAIN (R.). — Rapport au Congrès International des Anato-mopathologistes, Strasbourg, mai 1955 (Extraits in *Médecine d'Afrique noire*, 1956, n° 58 et n° 59).
- (8) DARRASSE (H.). — A propos de l'infection à *Salmonella typhi* murium à Dakar. *Bull. Mém. Ecole Méd. Dakar*, 1954, 2.
- (9) DARRASSE (H.) et LE MINOR (L.). — Nouveau type de *Salmonella* isolé à Dakar : *S. dakar*, *Bull. Soc. Path. exot.*, 1955, 48, 154-157.
- (10) DARRASSE (H.). — Trois cas de septicémies à bacilles dysentériques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1957 (sous presse).
- (11) DARRASSE (H.). — Diversité des types de *Shigella* rencontrés à Dakar. *Bull. Mém. Ecole Méd. Dakar*, 1954, 2.
- (12) DARRASSE (H.), DUPIN (H.) et CORREA (P.). — Rôle des *Escherichia coli* dans les gastro-entérites du nourrisson en pays tropical. *Bull. Méd. de l'A. O. F.*, 1954, 11, 225-247.
- (13) DARRASSE (H.). — Un cas de diarrhée aiguë fébrile à *E. coli* 55 : B5. *Bull. Mém. Ecole Méd. Dakar*, 1954, 2.
- (14) KAUFFMANN (F.). — Communication personnelle, 12 octobre 1955.
- (15) LE MINOR (L.), DARRASSE (H.) et MAZAUD (R.). — Un nouveau sérotype de *Salmonella S. kaolack*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, 91, 400-404.
- (16) LE MINOR (L.) et (S.) et DARRASSE (H.). — Un nouveau sérotype de *Salmonella* : *S. thiaroye*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, 91, 935.
- (17) MACKEY (J. P.). — Salmonellosis in Dar es Salaam. *East Afr. Med. J.*, 1955, 32, 1-6.
- (18) NÉEL (R.), JORGENSEN (K.), LE MINOR (L.) et MACHOUN (A.). — Contribution à l'étude de *Salmonella* Dublin. *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84, 410.
- (19) NICOLLE (P.) et HAMON (Y.). — Distribution des lysotypes du bacille typhique et du bacille paratyphique B. *Rev. Hyg. Méd. Soc.*, 1954, 2, 424-463.
- (20) NICOLLE (P.), VAN OYE, CROCKER (C. G.) et BRAULT (J.). — Sur une variété du lysotype C de *Salmonella typhi* rencontrée en Afrique Equatoriale et à Madagascar. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1955, 48, 492-510.
- (21) NICOLLE (P.), PAULATON (M.) et DIVERNEAU (G.). — Sous-types du lysotype A déterminés par la lysotypie complémentaire. *C. R. Acad. Sciences*, 1953, 236, 2453 et *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, 87, 443.
- (22) VAN OYE (E.). — Les *Salmonellæ* du Congo belge (4^e rapport). *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1956, 36, 299-306.
- (23) PIÉCHAUD (D.), RUBINSTEIN (S.) et PIÉCHAUD (M.). — A propos de 25 souches de *Sh. dysenteriae* 2 isolées dans la France d'Outre-Mer. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 89, 462.
- (24) *Rapports sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de l'A. O. F.*, années 1937 à 1955.

RECHERCHE D'UNE MÉTHODE PRÉCISE DE TITRAGE DES ANTICORPS PAR TEST DE SÉROPROTECTION

II. — Etude de la variation systématique du rapport virus anticorps.

Par R. PANTHIER A. J. P. CARTEAUD et R. A. HUSSON (*) (**)

Nous exposons dans une note précédente (1) que nous pensions pouvoir chiffrer les résultats fournis par le test de séroprotection par comparaison avec la courbe de virulence établie avec le virus utilisé pour la pratique de ce test. Or, comme nous le verrons plus loin, si ces résultats sont comparables pour quelques points de la courbe avec un inoculum contenant une certaine quantité de DL_{50} , les deux courbes de virulence, l'une obtenue par dilution de virus, l'autre par action neutralisante des anticorps sur le virus, ne sont pas identiques.

Un des facteurs importants de cette discordance est d'ailleurs facilement compréhensible si on se réfère au tableau publié dans cette note (1). Nous avons supposé que la virulence de chaque particule pouvait être comprise entre trois types, II, I et O. Si l'on admet que toutes les particules de l'inoculum sont du type I, par exemple, après dilution de l'inoculum par du sérum normal, on inoculera aux souris de moins en moins de particules virulentes toujours du type I. A la limite, il ne restera que quelques particules virulentes du type I : on réalisera ainsi une dose limite minima mortelle.

Au cours du test de séroprotection pratiqué par exemple avec un inoculum de 100 DL_{50} , à mesure que l'en ajoutera des anticorps à cet inoculum, le nombre des particules virulentes ne changera pas, seule leur *qualité* se modifiera. Le nombre respectif des particules du type I diminuera et le nombre des particules du type O augmentera progressivement (en réalité tous les intermédiaires entre ces deux types pourront se voir). A la limite (dose minima mortelle), on aura seulement quelques particules encore virulentes proches du type O.

A ce facteur facilement explicable s'ajoutent sans doute d'autres phénomènes, dus à la complexité de l'opération même du test de séroprotection. Le virus et le sérum anti sont laissés en contact un certain temps *in vitro* avant l'inoculation (20 minutes à la tempéra-

(*) Séance du 10 avril 1957.

(**) Travail réalisé avec la collaboration technique de Mlles HIBON et HENRION.

ture du laboratoire dans toute notre expérimentation) : à la protection *in vivo*, peuvent donc s'ajouter des phénomènes complexes de précipitation dus à la mise en présence d'un antigène et d'un anticorps. Si antigène et anticorps ne sont pas uniques, on risque d'avoir les phénomènes de zones classiquement trouvés dans les tests de précipitation.

Nous avons donc poursuivi notre expérimentation en fonction des idées exposées ci-dessus et nous avons d'une part étudié systématiquement les résultats fournis par des tests de séroprotection pratiqués avec des suspensions de virulence progressivement croissante de 1 DL₅₀ à 30.000 DL₅₀ et des solutions d'anticorps variant de 1 DP₅₀ à 10.000 DP₅₀; d'autre part nous avons étudié les résultats obtenus en faisant varier avec un inoculum de virulence fixe, des quantités d'anticorps de 1.000 DP₅₀ à 1/100 de DP₅₀.

I. — TECHNIQUE EMPLOYÉE ET MATÉRIEL UTILISÉ

Il nous fallait d'abord obtenir une récolte de virus amaril (souche de Dakar) capable de fournir, sur des souris aussi identiquement sensibles que possible au virus (même race; même élevage, même âge et même poids), des résultats aussi réguliers que possible. Dans ce but, nous avons fait varier, à partir d'une même ampoule de semence, la dilution de l'inoculum et, pour chaque dilution utilisée, nous avons récolté le virus en prélevant les cerveaux de souris paralysées depuis quelques heures, soit le premier jour d'apparition des paralysies (premier lot), soit le lendemain de l'apparition des premières paralysies (dernier lot).

Il nous est ainsi apparu que l'on obtient une récolte de virus qui répond au mieux aux conditions ci-dessus exposées si l'on évite d'une part l'utilisation d'un inoculum trop concentré et d'autre part si l'on évite de prélever les cerveaux des souris dont la paralysie est précoce (4^e jour après l'inoculation). L'inoculum qui semble le meilleur dans ce sens est de concentration un peu supérieure à la dose minima 100 0/0 mortelle.

De tous ces essais, nous avons retenu un lot, B₂₁E₂, réparti de façon égale en ampoules contenant un même volume de suspension virulente. Les ampoules scellées furent rapidement congelées et stockées à — 60° sans avoir été au préalable lyophilisées. Le virus lyophilisé, de conservation facile, donne dans l'ensemble des résultats satisfaisants. Nous avons préféré un virus non desséché car nous voulions éviter :

1° la chute provoquée par la lyophilisation (donc l'apparition de virus modifié),

2° la manipulation de réhydratation qui peut modifier la dispersion physique des particules,

3° la différence elle-même de la vitesse de réhydratation des particules virulentes donc la variation du pouvoir infectant qui se produit dès la réhydratation du virus.

Il nous fallait aussi du sérum antiamaril en quantité suffisante pour que toute l'expérimentation soit possible avec des échantillons comparables de suspensions d'anticorps. Nous avons utilisé un sérum expérimental de cheval (Cheval 62) préparé en 1952 avec notre collègue J. C. LEVADITI (2).

Enfin, ces recherches exigeant une grande quantité d'animaux, nous avons dû prévoir l'utilisation de souris provenant de deux élevages différents; *Souris P.* et *Souris T.* Ces souris sont issues de la même origine (Swiss), mais (nous le savions) elles présentent une sensibilité un peu différente au virus amaril: les souris T. sont un peu moins sensibles et donnent surtout des résultats moins groupés (apparition plus précoce des paralysies et mortalité plus dispersée); nous préférons donc les souris P. un peu plus sensibles mais surtout de sensibilité plus égale, chaque souris étant prise individuellement.

Un titrage soigneux du lot B₂₁E₂ nous donne les résultats suivants: $10^{-6,5}$ avec les souris P., et $10^{-6,4}$ avec les souris T. (point DL₅₀ calculé d'une part par la méthode de REED et MUENCH, d'autre part par la simple courbe de mortalité des souris). Les tests ont été pratiqués selon les indications déjà fournies dans notre note précédente.

Les résultats obtenus peuvent être chiffrés selon différentes méthodes, soit la P. R. (Protection ratio) des auteurs américains, qui permet de mettre en évidence les anomalies dans les survies des souris mais ne permet pas de constater les variations dans la réponse des souris alors que toutes les souris survivent, soit la méthode proposée par BUGHER (3) excellente tant que toutes les souris survivent mais qui limite arbitrairement à 10 jours le temps d'observation des souris après leur inoculation.

Soit enfin la méthode proposée par SVEN GARD que nous avons rappelée dans nos notes précédentes (1). C'est cette dernière méthode que nous avons choisie pour la représentation graphique (*).

Par ailleurs lorsqu'il y avait 3 variables dans nos résultats de

(*) Dans cette représentation graphique le point de jonction des deux courbes de virulence établies l'une à l'aide des paralysies l'autre à l'aide des morts correspond au point DL₀ = (dose létale 0 = limite de l'inoculum pour lequel on constate une absence de pouvoir pathogène).

l'expérimentation, nous avons choisi une représentation à trois dimensions déjà utilisée par SEGRE et coll. (4) dans une expérience sur le papillome bovin.

II. — VARIATION SYSTÉMATIQUE ET SIMULTANÉE DU RAPPORT VIRUS-ANTICORPS

Il s'agit de résultats obtenus avec des séries des dilutions décimales de virus et d'anticorps. Nous pensons que le sérum de Cheval 62 contient après dilution à 10^{-4} sensiblement 1 DP₃₀ (*).

Cette expérience ayant été faite avec les souris P., notre suspension virulente mère titrait $10^{-6,5}$ DL₃₀ pour un inoculum de 0 cm³ 03. Nous avons donc fait varier le virus de 1 DL₅₀ ($10^{-6,5}$) et 3 DL₅₀ (10^{-6}) à 30.000 DL₃₀ (10^{-2}) et le sérum de 1 DP₃₀ (10^{-4}) à 10.000 DP₃₀ (sérum pur).

Les résultats calculés par la méthode SVEN GARD ont été consignés en un volume qui est représenté sur la *figure 1*.

a) *Examen du volume.*

Sur le plancher de ce volume sont indiquées les dilutions de virus et de sérum et dans le plan vertical selon l'échelle indiquée nous avons noté « dans l'espace » les résultats 1/T fournis avec le temps d'apparition des paralysies et les temps de survie.

Nous indiquons en pointillé les résultats qui auraient été trouvés avec des quantités de virus obtenues par dilution de la suspension mère de virus en sérum normal, quantités qui correspondraient aux doses théoriquement restantes dans le mélange virus-sérum si 1 DP₃₀ neutralisait toujours exactement en apparence 1 DL₃₀, ceci quelles que soient les concentrations respectives de virus et de sérum.

L'examen du volume ainsi obtenu permet de retrouver les différences sensibles déjà signalées par Fox et ses coll. (5) si l'on utilise avec un même sérum de faibles ou de fortes concentrations de virus.

Il rend évident le fait que, au moins dans certaines zones, il n'existe pas de rapport mathématique simple entre les résultats obtenus avec des concentrations différentes de virus et un même sérum.

Il permet de constater la différence de base existant entre les

(*) DL₅₀ = dose léthale 50 o/o.

DP₅₀ = dose protectrice 50 o/o.

résultats fournis par le test et ceux du virus témoin tant qu'une proportion importante de souris ne survit pas : ceci est dû à l'allongement du temps moyen de survie. On voit aussi que dans

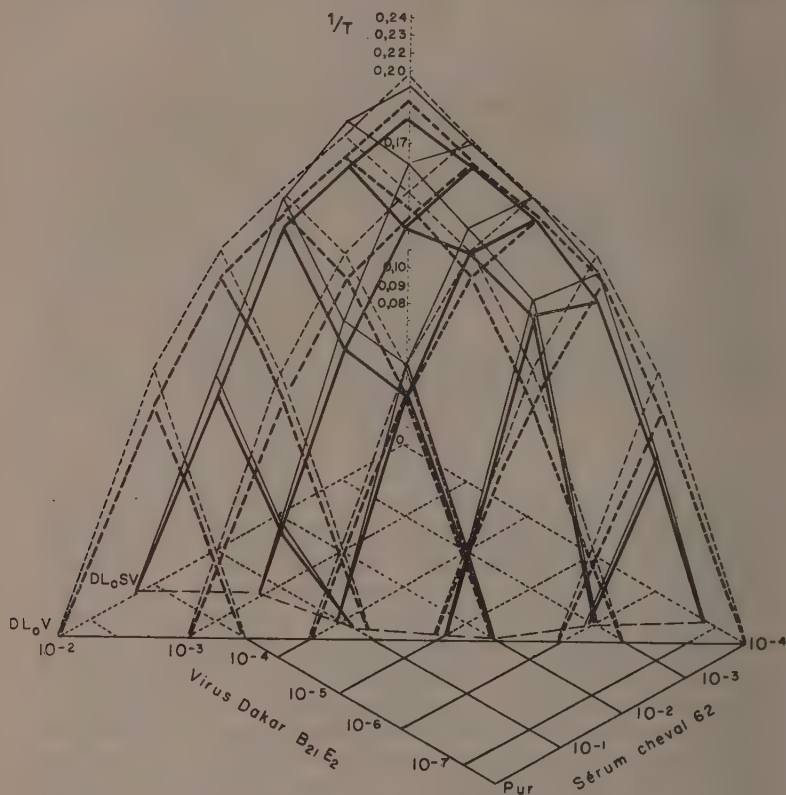


Fig. 1. — Plan vertical. Valeurs $1/T$ (méthode de SVEN GARD).

Traits pleins légers : valeurs $1/T$ établies à l'aide de l'apparition des paralysies.

Traits pleins forts : valeurs $1/T$ établies à l'aide de l'apparition des morts.

Traits pleins : valeurs obtenues par inoculation du mélange sérum anti et virus.

Traits pointillés : valeurs témoins données par le titrage de virus dilué, de pouvoir pathogène théoriquement égal à celui du mélange virus anticorps, pour chaque point correspondant du volume.

Plan horizontal. Dilutions logarithmiques du virus et du sérum anti.

certaines zones si le sérum contient peu d'anticorps, 3 à 10 DP₅₀, il est parfois bien difficile de le différencier d'un sérum négatif.

Enfin le phénomène de « vallée » (constaté dans la figure III de SEGRE et coll.) se retrouve et aussi bien cette anomalie que les phé-

nomènes de zone ne sont sans doute pas dus à des antigènes et des anticorps multiples. En effet dans l'expérience de ces auteurs, le sérum utilisé (sérum bovin) ne contenait pas d'anticorps. Par contre les chevaux inoculés avec le mélange virus sérum bovin répondaient à cette inoculation par des anticorps mesurables dans le sérum. Il est très vraisemblable que dans cette expérience, ces auteurs ont en réalité chiffré la lutte de vitesse entre le développement de l'élément virulent et l'immunité progressivement acquise par le cheval (les différences observées d'un cheval à l'autre étaient dues à leur sensibilité différente et à leur immunisation plus ou moins rapide). En somme, leur représentation graphique représenterait quelque chose d'assez voisin de ce que nous avons réalisé expérimentalement.

Nous avons une autre preuve expérimentale du fait que cet aspect irrégulier n'est sans doute pas un phénomène artificiellement dû à ces antigènes et anticorps (cerveaux et anti-cerveaux), car nous avons il y a trois ans étudié plus particulièrement un sérum humain fortement protecteur en faisant varier les dilutions de virus et de sérum. Nous avons ainsi obtenu 11 points différents qui ne semblaient reliés entre eux par aucun rapport mathématique simple. Or 10 de ces 11 points s'incorporent parfaitement dans le volume de la figure 1. Nous précisons qu'il s'agissait là de sérum humain et non de sérum de cheval.

b) Recherche du point DP_{50} .

Nous avons calculé les points DL_{50} des différents mélanges virus anticorps, obtenus aussi bien en faisant varier la quantité d'anticorps avec un même inoculum virulent, qu'en faisant varier la quantité de virus avec une même dilution de sérum et nous avons reporté ces différents points sur le plancher du volume (fig. 2). On constate que la ligne reliant la projection des différents points est sinueuse et assez irrégulière, mais la zone où la DL_{50} du mélange virus anticorps est la plus voisine de la DL_{50} théorique obtenue par dilution du virus se projette sur la zone correspondant à 100 DL_{50} neutralisées par 100 DP_{50} . Ceci confirme bien la valeur pratique des tests réalisés avec 100 DL_{50} , chiffre adopté par de nombreux auteurs.

Par contre, si ce point précis DL_{50} correspond bien à la DP_{50} , la pente de la courbe est bien différente de celle du témoin, ce qui traduit pratiquement le fait que nous avons déjà observé, c'est-à-dire que les anticorps provoquent un retard considérable du temps de survie par rapport au témoin.

Il nous faut donc rectifier un point important de notre note précédente : La courbe de virulence de référence ne doit pas être

établie à l'aide de virus dilué dans du sérum normal mais à l'aide d'un *mélange virus-anticorps*, la teneur en anticorps du sérum anti étant connue. On revient donc à la notion indispensable de *sérum étalon*. Or, même si l'on admet la notion d'un sérum étalon, il apparaît qu'un point pratique reste à préciser : la définition de la DP_{80} elle-même.

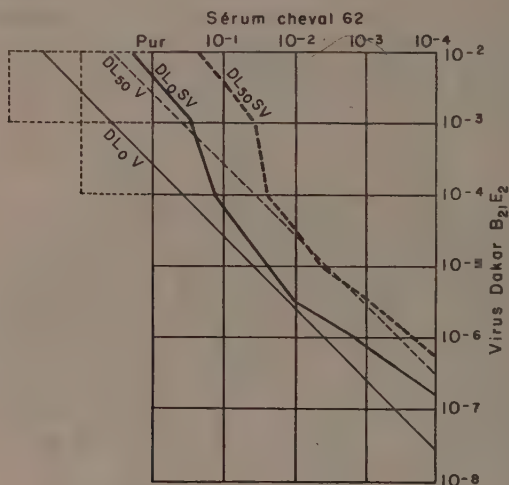


Fig. 2. — Plancher de la figure 1.

DL_0V = dose létale 0 o/o obtenue par dilution du virus.
 $DL_{50}V$ = dose létale 50 o/o obtenue par dilution du virus.
 DL_0SV = dose létale 0 o/o obtenue par mélange virus sérum anti.
 $DL_{50}SV$ = dose létale 50 o/o obtenue par mélange virus sérum anti.

Il s'agit sans doute du nombre de doses protectrices qui réduit à 50 o/o la mortalité des souris inoculées avec cette quantité d'anticorps et une suspension de virus contenant le même nombre de DL_{50} : donc $x DP_{50}$ mélangées à $x DL_{50}$ donnent 1 DL_{50} . Ce point est d'autant plus important à préciser que nous voyons les résultats varier avec le rapport virus anticorps.

III. — QUANTITÉ DE VIRUS CONSTANTE, VARIATION SYSTÉMATIQUE DE LA QUANTITÉ D'ANTICORPS

Jusqu'alors nous avons étudié les réponses des souris recevant de 1 DP_{50} à 10.000 DP_{50} .

Dans un deuxième temps, nous avons fait varier avec un même inoculum un seul élément : la teneur en anticorps, mais cette fois

avec un éventail plus étendu, c'est-à-dire avec de *très faibles doses d'anticorps*, moins de 1 DP₅₀.

Cette expérience a été faite à deux reprises, une fois avec des souris P. et un inoculum de 100 DL₅₀ (virus 10^{-4,5}), une autre fois avec des souris T. et un inoculum de 250 DL₅₀ (virus 10⁻⁴). Nous publions ces résultats détaillés dans les tableaux I et II auxquels correspondent les figures 3 et 4.

Les souris ont été examinées deux fois par jour, à 9 heures le matin et à 5 heures l'après-midi; à chaque examen on a noté les paralysées et les mortes. Les points 1/T calculés en fonction de ce double examen quotidien montrent que le sérum qui contient 1 DP₅₀ provoque un retard léger mais significatif de la mortalité des souris. Dans un des essais surtout, on constate un phénomène de zone pour 3 DP₅₀, puis la courbe est assez régulière.

Par contre, les résultats deviennent paradoxaux dès que l'on atteint 1/3 de DP₅₀. Si dans l'ensemble, par calcul mathématique global, le temps de survie reste assez voisin de celui du témoin (quoique en général plus faible), le temps d'apparition des paralysies se raccourcit.

Si on regarde dans les deux expériences le détail et non plus les résultats moyens (tableaux I et II), on constate un phénomène très net; les paralysies et la mort surviennent pour quelques souris précocement que pour le témoin.

Si l'on tient compte de ce que nous écrivons au début de cette note, une explication simple peut être donnée: le sérum du cheval 62 dilué au-delà de 10⁻⁴ ne contient plus assez d'anticorps pour toucher *toutes* les particules virulentes. On réaliserait ainsi expérimentalement le phénomène de dispersion de la virulence qui nous semble dangereux en vaccination humaine. En fait, on constate la mort de quelques souris très avant les premières morts du lot témoin, on démontre ainsi expérimentalement le danger des suspensions de virus dispersé que nous avons signalé par ailleurs (6, 7). Ce phénomène est intéressant également pour le titrage des anticorps car si l'apparition de la première paralysie dans un groupe de souris semble être déjà, à elle seule, un moyen simple et assez précis de chiffrer approximativement la teneur en anticorps d'un sérum, il sera possible de compléter par cette seule donnée les chiffres fournis par les méthodes mathématiques courantes 1/T de SVEN GARD, BUGHER, etc. En apparence, des souris inoculées avec au moins 1 DP₅₀ pour 100 DL₅₀ répondent toutes par l'apparition de paralysies d'autant plus tardives qu'il y a plus d'anticorps. Au-dessous de 1 DP₅₀, les premières paralysies et les premières morts apparaissent plus tôt que dans le lot de souris témoins.

Nous précisons que dans l'expérience réalisée avec les souris P.,

TABLEAU II

Jours	4		5		6		7		8		9		10	
	m.	s.	m.	s.	m.	s.	m.	s.	m.	s.	m.	s.	m.	s.
Dilution de sérum	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.	P. M.
10 ^{-1,5}	7	13 1	15 11	16 12	18 14	17 18	17 18	18	18					
10 ⁻³	3	10 1	15 11	17 12	18 16	17 18	18							
10 ^{-4,5}	6	10 3	12 8	13 10	18 13	14 17	16		18					
Témoin négatif . . .			12 7	13 10	18 14	15 18	17							
10 ⁻⁴			9 2	10 6	16 9	10 18	16 18							
10 ^{-3,5}		4 1	10 3	11 7	18 13	14 18	17 18							
10 ⁻³			5 6	1 15	4 17	8 16	14 16							
10 ^{-2,5}			1 5	2 10	3 12	2 11	9 11				18			
10 ⁻²					1 2	1 4	1 12				14			
10 ⁻¹						1 1	1 1				4		5	

Souris P.

Inoculum B₂₁E₂ 10-1,5 (100 DL₅₀).

Sérum cheval 62 (dilution en sérum humain normal).

Jours : m. : matin.

s. : soir.

P. : souris paralysées (résultats cumulatifs).

M. : souris mortes (résultats cumulatifs).

18 6

le sérum de cheval a été dilué dans du sérum normal humain pur. Les lots témoins respectifs ont été inoculés évidemment dans des conditions analogues. Dans tous ces essais le temps de contact

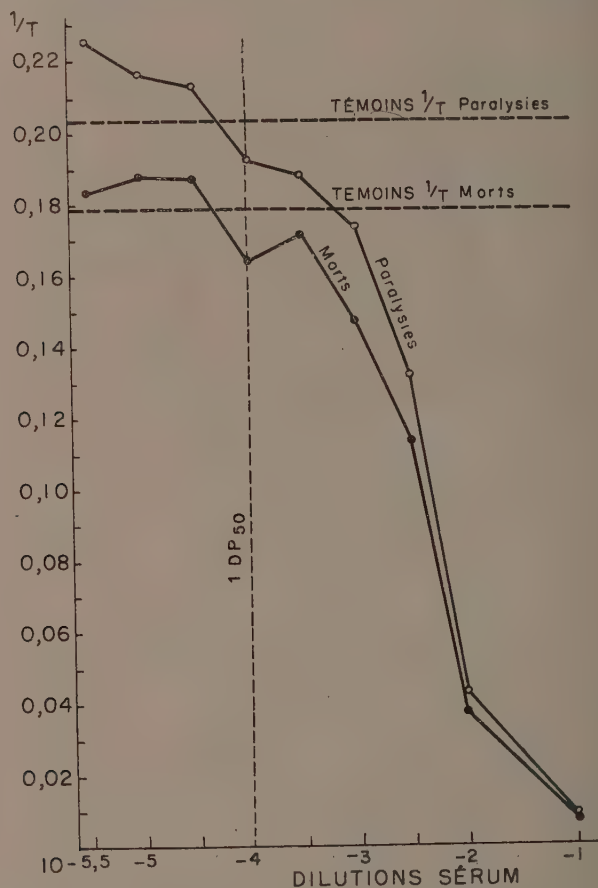


Fig. 3. — Courbe de virulence établie selon la méthode de SVEN GARD, d'après les résultats consignés dans le tableau I.

Inoculum B₂E₂ à 10^{-4} .

Sérum cheval 62 dilué en sérum de cheval normal au 1/10.
Souris T.

virus-sérum a toujours été de 20 minutes à la température du laboratoire, soit 19° à 20°.

Par ailleurs, nous avons retrouvé dans une expérience de DURIEUX et KOERBER (8) des résultats qui permettent de penser que ces

auteurs avaient déjà constaté ce phénomène d'augmentation apparente de la virulence provoquée par l'inoculation de très faibles

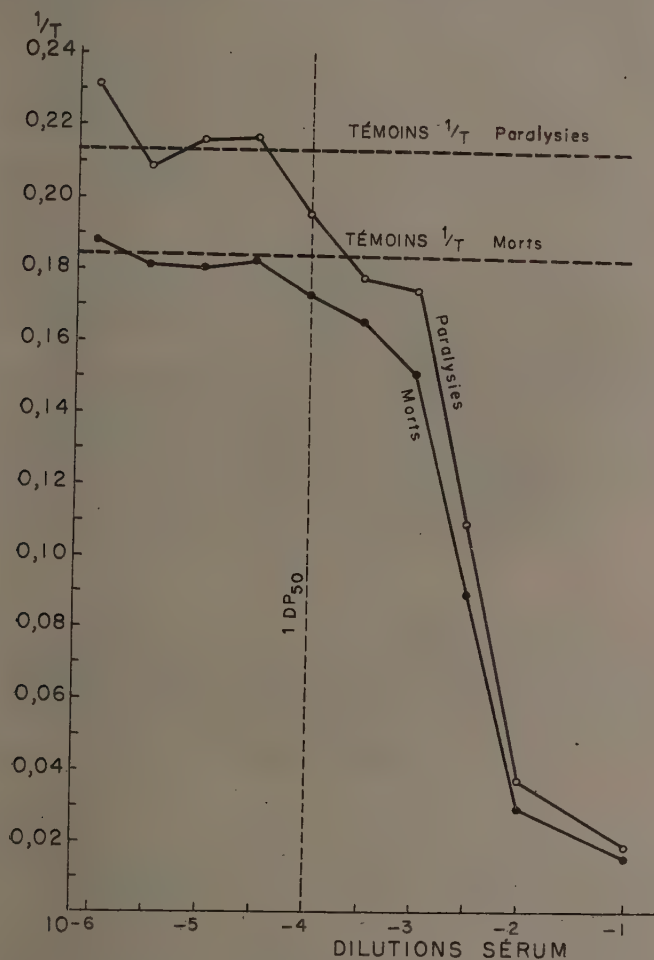


Fig. 4. — Courbe de virulence établie selon la méthode de SVEN GARD, d'après les résultats consignés dans le tableau II.

Inoculum B₂₁E₂ à $10^{-4,5}$.

Sérum cheval 62 dilué en sérum humain normal.

Souris P.

doses d'anticorps. Au cours d'essais destinés à étudier la courbe du développement des anticorps après la vaccination, leurs résultats indiquent nettement pour les 5^e et 6^e jours qui suivent la vac-

ination, des résultats chiffrés par la méthode de BUGHER inférieurs à ceux du témoin négatif et ces auteurs pensaient que le virus circulant dans le sang des vaccinés venait augmenter la virulence de l'inoculum. Comme les tests sont rarement faits aussitôt après la prise de sang, nous pensons que ce phénomène traduisait en fait l'apparition de très faibles quantités d'anticorps. La réponse d'immunité sérologique commencerait donc *très tôt* après la vaccination, alors même qu'il existe encore du virus-circulant.

Il faut noter enfin que dans l'exemple que nous publions (tableau II et figure 4), le sérum de cheval à 10^{-2} qui contient 100 DP₅₀ ne neutralise pas exactement 100 DL₅₀. En réalité le lot de 18 souris était réparti en trois bocaux de 6 souris, dans deux bocaux la mortalité fut bien de trois sur six mais dans un bocal où d'ailleurs les souris n'étaient pas en bonne santé apparente (maladie intercurrente?), aucune souris n'est morte.

Nous soulignons donc que même en prenant le maximum de précautions pour cette pratique des tests, une variable « souris » persiste, et, surtout aux alentours de la zone de neutralisation, les résultats ne peuvent dépasser une certaine précision même si on utilise un grand nombre d'animaux.

CONCLUSION

En étudiant les résultats de tests de séroprotection (méthode de M. THEILER) pratiqués en faisant varier systématiquement dans l'inoculum les quantités de virus et d'anticorps, on voit apparaître les difficultés d'application de cette méthode. Tout résultat donné avec un sérum inconnu ne peut être chiffré pratiquement que par comparaison avec un test témoin, fait lui-même avec un sérum connu.

Si l'on veut définir une dose protectrice 50 o/o valable avec toutes les techniques proposées, il semble bien qu'on doive faire une étude systématique et comparative de ces différentes méthodes avec un sérum anti équivalent.

On voit aussi qu'il faut prendre garde d'une part aux phénomènes de zones qui peuvent faire considérer comme négatif un sérum faiblement mais nettement positif, d'autre part, aux sérums qui contiennent de très faibles doses d'anticorps, qui peuvent donner un résultat en apparence plus négatif que ceux qui sont fournis par le témoin.

Il est nécessaire de standardiser le mode d'évaluation du nombre de doses protectrices contenues dans un sérum ceci aussi bien en ce qui concerne les enquêtes épidémiologiques (surtout en cas

de diagnostics sérologiques difficiles avec des maladies à virus donnant des anticorps voisins des anticorps anti-mariques), qu'en ce qui concerne l'examen de la valeur immunisante comparée de différents vaccins. Il est certain en effet que tant qu'une méthode de référence et qu'un sérum étalon ne seront pas choisis et imposés, on ne pourra valablement chiffrer les pourcentages respectifs d'immunisation provoquée par différents vaccins.

*Institut Pasteur,
Service de la Fièvre Jaune.*

BIBLIOGRAPHIE

- (1) PANTHIER (R.). — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1956, 49, 759.
- (2) LEVADITI (J. C.), HUSSON (R. A.) et PANTHIER (R.). — Travaux et documents IV. Vaccinations contre les maladies contagieuses de l'enfance. *Centre International de l'Enfance*. Paris, 1952, 395.
- (3) BUGHER (J. C.). — *Amer. J. Trop. Med.*, 1940, 20, 809.
- (4) SEGRE et coll. — *Amer. J. of Vet. Res.*, 1955, 16, 517.
- (5) FOX (J. P.) et coll. — *Amer. J. of Hyg.*, 1934, 38, 113.
- (6) PANTHIER (R.). — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1956, 49, 477.
- (7) PANTHIER (R.). — *Ann. Inst. Past.*, 1957, 92, 310.
- (8) DURIEUX (C.) et KOERBER (R.). — *O. M. S.* série de monographies, n° 30, 51.

ASSOCIATION CHLOROQUINE/PYRIMÉTHAMINE DANS LA CHIMIOPROPHYLAXIE DU PALUDISME

Premiers résultats.

Par JEAN SCHNEIDER, JEAN LANGUILLON et ANDRÉ DELAS (*)

En 1954, l'un de nous, en collaboration avec G. MONTÉZIN et R. DUPOUX (2) rapportait des résultats concernant l'association *chloroquine/pyriméthamine* dans le traitement curatif du paludisme. Ces essais, menés tout d'abord au laboratoire, puis en clinique, montraient que l'emploi simultané de ces deux antipaludiques était intéressant car l'association de ces deux produits, de formule chimique et de mode d'action différents, permettait d'observer une addition des activités.

Nous avons ainsi pu démontrer, au laboratoire d'abord, puis chez l'homme, que l'emploi simultané de doses inactives de l'un

(*) Séance du 10 avril 1957.

et de l'autre de ces antipaludiques permettait d'obtenir une action schizonticide aussi rapide que celle qui aurait été obtenue avec l'emploi de la dose minima active de l'un ou de l'autre de ces produits.

Notre travail initial avait retenu l'attention des malariologues et, lors de la Conférence du Paludisme en Afrique, organisée par l'O. M. S. à Lagos, en 1955, un certain nombre de participants avaient exprimé le désir de voir expérimenter une association du même ordre, pour le traitement de masse et la chimioprophylaxie.

Dès l'abord, l'un de nous avait fait des réserves quant à l'emploi de la *pyriméthamine* en chimioprophylaxie pendant une longue période, dans la même région : En effet, dans un premier travail paru en 1952 et consacré à l'action de la *pyriméthamine* dans le traitement curatif du paludisme, il avait, en collaboration avec CANET et DUPOUX (1) souligné les dangers inhérents à l'emploi prolongé de ce produit, du fait qu'aussi bien au laboratoire que, plus tard, en clinique, on avait pu observer, comme cela avait été constaté précédemment avec le *proguanil*, la création de souches résistantes.

Cependant, malgré cet obstacle et vu l'intérêt que présentait, *a priori*, l'association de deux puissants schizonticides à des doses très faibles — intérêt accru par l'action antisporonogonique de la *pyriméthamine* — il fut entendu qu'un premier essai de chimioprophylaxie avec cette association serait fait dans la région du Diamaré, dans le Nord-Cameroun.

Nous avons choisi deux secteurs, en tous points comparables et situés tous deux dans une zone hyper-endémique, l'un de ceux-ci devant être soumis à la chimioprophylaxie, l'autre servant de témoin : Il s'agissait des villages de Guirvidic (zone traitée) et de Goudoum-Goudoum (zone témoin), ce dernier situé à 30 km. du précédent. Bien entendu, aucune lutte anti-anophélienne n'était menée dans ces secteurs.

Cette zone hyper-endémique de paludisme est sujette à des recrudescences saisonnières d'anophélisme, consécutives à la saison des pluies qui se situe de juillet à octobre.

Première partie des essais : avril/septembre 1956.

Pour des raisons bien connues de tous les malariologues d'Afrique, le traitement ne fut appliqué qu'aux enfants. Nous avons traité, pendant toute la période de cet essai, les enfants depuis leur naissance jusqu'à l'âge de 9 ans ; dans le secteur traité de Guirvidic, 250 enfants de moins de 9 ans furent ainsi soumis à la chimioprophylaxie.

MODALITÉS DU TRAITEMENT

A la Conférence africaine du paludisme de Lagos, il avait été entendu que les doses utiles, en chimioprophylaxie collective, ou pour les traitements de masse, étaient les suivantes :

1) *Pour la chloroquine ou l'amodiaquine* : 300 mg. une fois par semaine pour les sujets de plus de 12 ans; 150 mg. hebdomadaire pour les sujets de 6 à 12 ans; 75 mg. hebdomadaire pour ceux de moins de 6 ans.

2) *Pour la pyriméthamine* : 25 mg. hebdomadaire pour les sujets de plus de 5 ans; 12 mg. 5 hebdomadaire pour ceux de moins de 5 ans.

Ces doses étant, bien entendu, comme toujours, exprimées en base active.

Pour nous conformer aux directives de la Conférence de Lagos, nous avons fait préparer, à l'intention de nos essais, des comprimés contenant, par unité, 150 mg. de *chloroquine*-base et 12 mg. 5 de *pyriméthamine*-base, soit, par comprimé, pour chacun des constituants, la moitié de la dose considérée comme active pour l'adulte.

Des essais de thérapeutique curative dont nous avons parlé ci-dessus, il ressortait que l'addition de la moitié de la dose active de chacun des deux produits devait permettre d'obtenir des résultats équivalant à ceux obtenus avec l'emploi de la dose normale de l'un ou de l'autre médicament.

Etant donné que les comprimés contenaient la moitié de la dose reconnue active de l'un et l'autre produits, nous avons administré aux enfants de moins de 9 ans, 1/2 comprimé de cette association, une fois par semaine, pendant toute la durée de l'expérience, soit 75 mg. de *chloroquine* + 6 mg. 25 de *pyriméthamine*.

Les contrôles ont été établis de la façon suivante :

— Examen systématique mensuel des rates et du sang des enfants traités.

— Etablissement d'index spléniques et plasmodiques, comparativement aux mêmes index établis chez des enfants du même âge et dans les mêmes conditions dans le secteur-témoin, au début, pendant, et à la fin de la première partie de ces essais.

RÉSULTATS

Dans cette zone hyper-endémique et où aucune lutte anti-larvaire ou anti-anophélienne n'était menée, il n'a pratiquement pas été observé de variation des index spléniques et plasmodiques

dans le village de Goudoum-Goudoum; dans ce *secteur-témoin*, les index relevés ont été les suivants, chez les enfants de 0 à 9 ans :

	Index spléniques	Index plasmodiques
Mars 1956	77 0/0	69 0/0
31 juillet 1956 . . .	84 »	68 »
30 décembre 1956 . . .	80 »	60 »

Par contre, dans le *secteur traité* on observait une action extrêmement rapide et remarquable de la chimioprophylaxie qui a été commencée le 15 avril 1956 et se poursuit encore actuellement.

A la lecture du tableau n° 1 on pourra évaluer la réduction très remarquable et progressive des index spléniques et plasmodiques jusqu'à la date du 30 juillet 1956. A ce moment-là, on constatait que l'index splénique, qui était de 71 0/0 le 12 avril 1956 avant le début du traitement, était tombé à 4 0/0, et que l'index plasmodique, qui s'élevait le 12 avril à 67 0/0, était tombé à 0 0/0 le 30 juillet 1956.

TABLEAU I

Période du 12 avril au 30 septembre 1956

Evolution des index spléniques et plasmodiques des 250 enfants de 0 à 9 ans prenant une fois par semaine l'association de 75 mg. de chloroquine + 6 mg. 25 de pyriméthamine.

	12-4-1956	30-4-1956	30-5-1956	30-6-1956	30-7-1956	30-8-1956	30-9-1956
	Avant traitement	Après 2 distributions	Après 1 mois 1/2 de traitement	Après 2 mois 1/2 de traitement	Après 3 mois 1/2 de traitement	Après 4 mois 1/2 de traitement	Après 5 mois 1/2 de traitement
Index splénique. . . .	71 0/0	17,7 0/0	5 0/0	2 3 0/0	4 0/0	8 0/0	12 0/0
Index plasmodique . . .	67 0/0	13 0/0	6 0/0	2,3 0/0	0	15 0/0	27 0/0

De cette première partie de l'expérimentation, il ressort un fait patent : l'activité remarquable de l'association *chloroquine-pyriméthamine*, et la démonstration renouvelée de l'addition d'action de ces deux médicaments.

A partir du mois d'août 1956, l'élévation des index nous a incités à faire d'autres réflexions confirmant, en partie au moins, nos craintes initiales concernant la création d'une chimiorésistance.

En effet, alors que le 30 juillet l'index splénique était de 4 0/0 et l'index plasmodique de 0 0/0, le 30 août, l'index splénique était passé à 8 0/0 et l'index plasmodique à 15 0/0. Cette augmentation, proportionnellement beaucoup plus importante de l'index plasmodique, laissait supposer qu'un grand nombre d'enfants avaient été récemment contaminés, malgré l'administration du médicament prophylactique. Le 30 septembre, cette impression était confirmée : l'index splénique était passé à 12 0/0, l'index plasmodique à 27 0/0.

Cette remontée brutale de l'index plasmodique, coïncidant avec la période des pluies et la multiplication de la transmission, laissait supposer que l'association utilisée était devenue incapable de protéger efficacement les enfants de la région.

La question qui se posait était de savoir si les doses utilisées étaient suffisantes, ou bien si l'un des deux produits n'avait pas perdu de son activité. L'idée qui nous vint tout d'abord fut celle de la possibilité d'une chimiorésistance vis-à-vis de la pyriméthamine, laquelle, nous le savions déjà de source certaine, avait été observée par d'autres auteurs.

Deuxième partie des essais : octobre 1956/mars 1957.

Pour vérifier notre hypothèse, à partir du 1^{er} octobre 1956, nous avons modifié le protocole de la façon suivante :

1) Aucun changement dans le *secteur-témoin* où les enfants ont continué à être suivis régulièrement et où nous avons constaté comme nous l'avons indiqué ci-dessus, la persistance du degré d'infestation, marquée par le maintien, à leur taux initial, des index spléniques et plasmodiques.

2) Nous avons divisé en trois groupes les enfants du *secteur traité* de Guirvidic :

a) le premier groupe continua à recevoir, une fois par semaine, la même dose de médicament, c'est-à-dire 1/2 comprimé de l'association *chloroquine/pyriméthamine* (75 mg. de *chloroquine* + 6 mg. 25 de *pyriméthamine*) ;

b) le deuxième groupe reçut une fois par semaine 25 mg. de *pyriméthamine*, dose considérée comme active en chimioprophylaxie pour le traitement des adultes et dose quatre fois supérieure à la dose de *pyriméthamine* contenue dans les comprimés mixtes ;

c) le dernier groupe reçut la dose hebdomadaire de 300 mg. de *chloroquine*, dose considérée comme active pour la chimioprophyl-

laxie des adultes et correspondant à quatre fois la dose de chloroquine administrée dans les comprimés mixtes.

L'étude des index spléniques et plasmodiques à partir du mois d'octobre, permet clairement de constater qu'il n'y eut aucune espèce de résistance vis-à-vis de la *chloroquine* et que, par contre, un certain degré de résistance s'est manifesté vis-à-vis de la *pyriméthamine*.

En effet, les index malarométriques, établis successivement en novembre, décembre 1956, janvier et février 1957 et qui sont rapportés en détail dans le tableau n° 2, montrent que, après 2 mois de traitement, l'index splénique était passé (le 30 novembre) de 12 à 20 o/o et l'index plasmodique se maintenait à 21 o/o dans le groupe A (qui continuait à recevoir les comprimés mixtes *chloroquine/pyriméthamine* aux doses indiquées ci-dessus) et que, au 10^e mois de la prophylaxie (28 février 1957), l'index splénique s'élevait, dans le même groupe, à 12 o/o et l'index plasmodique à 14 o/o, alors que, au début, rappelons-le, après 3 mois 1/2 du même traitement, l'index splénique était tombé à 4 o/o et l'index plasmodique à 0 o/o.

TABLEAU II

Période du 1^{er} octobre 1956 au 28 février 1957.

A dater du 30 septembre 1956, les 250 enfants ont été divisés en 3 groupes.

30-9-1956			30-11-1956 (2 mois de traitement)	30-12-1956 (3 mois de traitement)	30-1-1957 (4 mois de traite- ment)	28-2-1957 (5 mois de traite- ment)
Avant changement : Index splénique 12 o/o	Groupe A : Même traitement hebdomadaire : (75 mg chloroqui- ne + 6 mg. 25 py- riméthamine).	Ind. splén.	20 o/o	40 o/o	20 o o	12 o o
		Ind. plasm.	21 o/o	16 o/o	16 o o	14 o o
Index plasmodique 27 o/o	Groupe B : 25 mg. hebdoma- daire pyrimé- thamine.	Ind. splén.	24 o/o	20 o/o	10 o o	16 o o
		Ind. plasm.	30 o/o	15 o o	12 o o	10 o, o
	Groupe C : 300 mg. hebdoma- daire chloroqui- ne.	Ind. splén.	8 o o	7 o, o	6 o, o	6 o o
		Ind. plasm.	10 o/o	6 o o	4 o, o	0

Dans le groupe B (où les enfants recevaient, chaque semaine, la dose de 25 mg. de *pyriméthamine* correspondant à la dose reconnue active pour l'adulte) après 2 mois de traitement, le 30 novembre, l'index splénique était passé de 12 à 24 0/0 et l'index plasmodique de 27 à 30 0/0. Ultérieurement, comme on pourra le constater dans le tableau II, le chiffre des index spléniques et plasmodiques s'abaissa légèrement mais, néanmoins, le 28 février, l'index splénique était encore à 16 0/0 et l'index plasmodique à 10 0/0, alors que la chimioprophylaxie était continuée régulièrement à dose pleine depuis le 1^{er} octobre.

Enfin, dans le groupe C (recevant la dose de 300 mg. de *chloroquine*), on observait très rapidement une chute spectaculaire des index : le 30 novembre, 2 mois après le début de l'administration de la *chloroquine*, l'index splénique était tombé de 12 à 8 0/0 — l'index plasmodique de 27 à 10 0/0 et, le 28 février, l'index splénique était à 6 0/0, l'index plasmodique à 0 0/0.

CONCLUSIONS

Nous rapportons aujourd'hui les résultats de cette première série d'essais, après 10 mois 1/2 de traitement et avant la prochaine saison de transmission. Dans une prochaine note, nous rapporterons les résultats ultérieurs, qui nous permettront de tirer des conclusions plus complètes, mais, dès à présent, nous pouvons faire état des constatations suivantes :

1) On a pu, en chimioprophylaxie, retrouver ce que nous avons constaté dans le traitement curatif de l'accès palustre : la notion d'une addition des activités schizonticides de la *chloroquine* et de la *pyriméthamine* telle qu'administrées associées l'une et l'autre à la moitié de leurs doses reconnues actives, elles ont permis, en moins de 4 mois, dans une région d'hyper-endémie, en dehors de toute lutte anti-anophélienne, de ramener les index plasmodiques chez les enfants, de plus de 70 0/0 à 0 0/0.

2) La poursuite des essais a permis de constater que lorsqu'on administre, pendant plusieurs mois consécutifs, de la *pyriméthamine* dans la même région, on peut observer l'apparition d'une chimiorésistance. Cette notion était déjà connue, tant par les travaux de laboratoire que par certaines observations cliniques rapportées antérieurement par d'autres auteurs et nous en apportons aujourd'hui une nouvelle démonstration.

RÉFÉRENCES

- (1) SCHNEIDER (J.), CANET (J.) et DUPOUX (R.). — Traitement curatif du paludisme par une 2-4-diaminopyrimidine. Premiers résultats. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1952, 45, 1, 33-43.
- (2) SCHNEIDER (J.), MONTÉZIN (G.) et DUPOUX (R.). — Etude expérimentale et clinique de l'activité antipaludique d'une association de deux schizonticides : la chloroquine et la pyriméthamine. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1954, 47, 6, 791-795.

INDICES PALUDOMÉTRIQUES ET IMMUNITÉ PALUSTRE
CHEZ L'ENFANT AFRICAIN

Par ANDRÉ LACAN (*)

Au cours de nos enquêtes malariologiques, nous nous sommes particulièrement attaché à étudier l'endémie palustre chez l'enfant et à connaître le moment où s'organise un état d'équilibre entre l'hôte et le parasite. Cette prémunition limitera les manifestations cliniques et parasitologiques du paludisme et dès qu'elle s'établira, l'africain sera armé pour se défendre contre l'infestation palustre.

Nos enquêtes ont porté sur des enfants de 0 à 10 ans de différentes régions du Moyen-Congo et à diverses saisons. Nous avons vu les enfants du Paysannat de Divenié en région forestière au mois de janvier 1956, pendant la saison des pluies ; ceux des cantons de N'Koue et Reneville dans le district de Mayama en zone de savane en saison sèche au mois d'août 1956, et ceux de M'Pouya dans la région de l'Alima-Lefini, région de savane aux mois d'octobre et de novembre 1956 en début de saison des pluies. Dans toutes ces régions, nous avons trouvé un paludisme hyperendémique, c'est-à-dire un indice splénique supérieur à 50 o/o chez les enfants de 2 à 10 ans.

Nous avons mesuré la splénomégalie en utilisant la méthode de NOËL BERNARD et fait à chaque enfant une goutte épaisse et un frottis pour la recherche des hématozoaires.

Avant d'étudier le résultat de nos examens, nous dirons que les principales espèces anophéliennes vectrices sont dans ces régions prospectées = *A. gambia*, *A. funestus* et *A. moucheti* avec prédominance de *A. gambia* dans la région de l'Alima-Lefini.

Du point de vue espèces plasmodiales, nous avons trouvé dans les différentes régions, à peu près les mêmes proportions à savoir 80 à 85 o/o de *Plasmodium falciparum* et 15 à 20 o/o du *Plasmo-*

(*) Séance du 10 avril 1957.

dium malarix (le *Plasmodium vivax*, très rare, n'a été retrouvé qu'à Divenié et Mayama dans la proportion de moins de 10/0).

Malgré les difficultés et les risques d'erreurs concernant l'appréciation de l'âge des enfants, nous les classons en 3 catégories :

1° les nourrissons de 0 à 12 mois, que nous avons divisés en catégories d'âge de 3 mois en 3 mois ;

2° les petits enfants de 1 an à 6 ans, que nous avons classés de 1 à 2 ans, de 2 à 4 ans et de 4 à 6 ans ;

3° les enfants de 6 à 10 ans.

Le tableau ci-dessous représente les divers indices (splénique, parasitaire, gamétique) pour les différents lieux prospectés. Ces indices sont reportés sous forme de courbe sur le graphique joint.

TABLEAU

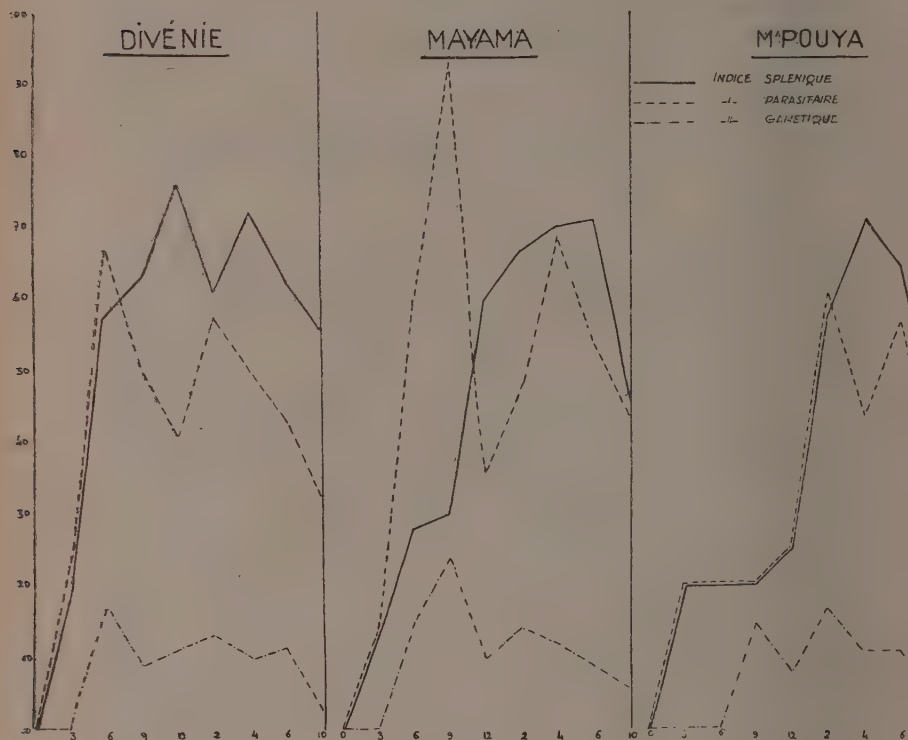
Enquête	Divenié			Mayama			M'Pouya		
Nombre d'examens.	576			710			320		
Indices	I. S.	I. P.	I. G.	I. S.	I. P.	I. G.	I. S.	I. P.	I. G.
0 à 3 mois	19	23	0	13	13	0	20	20	0
3 à 6 mois	58	67	17	28	60	15			
6 à 9 mois	63	50	9	30	93	24	20	20	20
9 à 12 mois	76	41	11	60	36	10	25	25	8
1 à 2 ans	61	57	13	67	48	14	58	61	22
2 à 4 ans	72	50	10	70	69	12	71	44	11
4 à 6 ans	62	43	11	71	54	9	65	57	11
6 à 10 ans	55	32	2	46	44	6	40	36	4

Nos commentaires porteront sur :

- les indices spléniques,
- les indices parasitaires,
- les indices gamétiques,
- les rapports entre ces différents indices.

1° Les indices spléniques.

La rate réagit rapidement à l'infestation par l'hématozoaire et à la fin du troisième mois elle est bien souvent palpable. Le nourrisson a une splénomégalie progressive qui atteint parfois dès la pre-



mière année un volume considérable, car dès qu'une rate devient palpable sous le rebord costal elle a doublé de volume. Entre 1 et 6 ans, les indices spléniques déjà élevés subissent encore une ascension. Mais ce sont surtout les grosses rates qui font leur apparition (rates nos 3, 4). Entre 2 ans et 6 ans, l'indice splénométrique ($IS \times RHM$) atteint son maximum. A partir de 6 ans, la rate diminue de volume, les petites rates (n° 2) rentrent dans leur loge et ne sont plus palpables, les grosses rates (nos 3, 4 et 5) régressent. L'indice splénique diminue ainsi que l'indice splénométrique lequel approchant de 3 entre 2 et 6 ans, tend à descendre vers 2 après 6 ans.

La courbe de l'indice splénique est donc une courbe en clocher plus ou moins émoussé, dont la partie ascendante correspond aux nourrissons ou aux très jeunes enfants et la partie descendante aux enfants de plus de 6 ans.

2° Les indices parasitaires.

L'enfant est parfois infesté au cours de la gestation par sa mère paludéenne. Nous avons alors des avortements ou des naissances prématurées. Ces petits prématurés présentent dans leur sang dès leur naissance des schizontes de *plasmodium* et ne survivent pas en général. Ce diagnostic de paludisme congénital est rarement fait et la prématurité est attribuée à diverses étiologies. Si l'on observe les périodes où il y a un plus grand nombre de prématurés, on constatera qu'elles correspondent aux recrudescences saisonnières de paludisme (début et fin de saison des pluies).

Quoi qu'il en soit, l'enfant est souvent infesté dès sa naissance. Il ne bénéficie pas d'une immunité naturelle à l'égard des hématozoaires humains. Il est cependant possible que la mère lui transmette une immunité passive relative mais celle-ci est de courte durée, ne dépassant pas quelques semaines. Cette immunité se traduirait par une diminution de la parasitémie. Elle doit être bien fragile car nous avons vu des nourrissons de 19, 20 et 21 jours qui présentaient de si nombreux schizontes de *Plasmodium falciparum* dans leur sang qu'il était permis de diagnostiquer des accès pernicleux.

Cette immunité passive de la mère à l'enfant est donc très brève car dès l'âge de 3 mois, l'indice parasitaire atteint 10 à 30 0/0 et s'élève très rapidement pour atteindre son maximum entre 6 et 12 mois en général. C'est d'ailleurs une période de polymortalité chez les nourrissons qui payent ainsi un lourd tribut à l'infestation palustre.

Puis, brusquement, cette parasitémie diminue alors que les indices spléniques augmentent, c'est à ce moment que se produit l'intersection des deux courbes : celle des indices spléniques ascendante, celle des indices parasitaires descendante.

Mais le plus souvent cette chute des indices parasitaires n'est pas définitive et nous assistons à une nouvelle ascension qui n'atteint d'ailleurs jamais un niveau aussi élevé que chez le nourrisson. Enfin, entre 4 et 6 ans, la parasitémie commence à décroître d'une façon régulière pour arriver vers 10 ans à des pourcentages relativement peu élevés.

3° *Les indices gamétiques.*

Si de la naissance à 3 mois, le nourrisson ne présente pas de gamétocytes (sauf dans le cas de paludisme congénital et encore ne les trouve-t-on que dans la moelle osseuse, ou les organes profonds), ces gamétocytes font leur apparition dès le troisième mois. A partir de ce moment, l'indice gamétique va augmenter jusque vers 4 ou 6 ans pour diminuer nettement ensuite.

On peut donc considérer que le véritable réservoir de virus de la maladie est le nourrisson et le petit enfant jusqu'à 6 ans.

4° *Rapports entre les différents indices.*

Nous avons réparti les enfants en trois grandes catégories d'âge auxquelles correspondent différentes phases de l'infestation palustre.

Chez le nourrisson, c'est la période des courbes ascendantes qui dénotent l'infestation aiguë par l'hématozoaire. Si pendant les premières semaines de sa vie, il peut bénéficier d'une certaine immunité passive transmise par la mère, il est vite désarmé devant l'apport massif des hématozoaires et son organisme doit réagir seul et organiser lui-même sa défense. C'est la phase où l'indice plasmodique est supérieur à l'indice splénique, c'est la phase de l'infestation aiguë, qui correspond aussi à la période où la mortalité par accès pernicieux est la plus élevée.

Chez le petit enfant, et quelquefois très tôt, nous assistons à l'intersection des courbes des indices splénique et parasitaire, celle-ci franchement descendante. L'indice parasitaire devient inférieur à l'indice splénique et va le demeurer désormais. C'est, à notre avis, la première manifestation d'une immunité active organisée chez l'enfant. Le système réticulo-endothélial a réagi contre l'hématozoaire, la rate en particulier s'hypertrophie, mais la parasitémie diminue. Ce début d'immunité est encore fragile et correspond à une période de changement dans le mode de vie de l'enfant : en effet, c'est le moment du sevrage, la période où l'enfant commence à se traîner. Le changement d'alimentation, celle-ci bien souvent peu rationnelle pour le petit africain, les parasitoses intestinales, tous les troubles digestifs de la première enfance vont mettre l'enfant en état de moindre résistance. L'immunité insuffisamment établie ne parviendra pas à enrayer l'infestation dans ce petit organisme subissant de multiples assauts et nous verrons les indices parasitaires remonter sans tout de même atteindre des chiffres aussi élevés que chez le nourrisson. C'est aussi une période grave

pour la vie de l'enfant sans qu'il soit bien souvent possible de déterminer l'étiologie exacte de la mortalité : troubles digestifs, parasitoses, affections pulmonaires ou paludisme, ou bien association de diverses étiologies. On a souvent trop tendance à poser un diagnostic de paludisme sur un frottis ou une goutte épaisse dans lequel ont été vus quelques rares schizontes. De toutes façons, si le paludisme à cette période n'est pas toujours responsable de la mort de l'enfant, il a mis celui-ci en état d'infériorité pour résister à de nouvelles infections.

Ce petit enfant de 1 à 4 ans, s'il est lui-même en danger, est aussi un danger pour son entourage, car c'est à cette période qu'il héberge le plus de gamétocytes : c'est principalement l'enfant de 1 à 4 ans qui constitue le réservoir de virus de la maladie.

Chez l'enfant, à partir de 6 ans, tous les indices diminuent nettement. Dans toutes nos enquêtes, nous constatons un quasi-parallélisme descendant de toutes les courbes. Il semble que dès l'âge de 6 ans, une immunité acquise active se soit organisée. Cette immunité ira en croissant et les signes d'infestation palustre diminueront. L'enfant, armé désormais contre l'hématozoaire, pourra résister à de nouvelles réinfestations.

Nous avons donc trois périodes dans l'infestation palustre de l'enfant :

- 1° Une phase d'infestation aiguë chez le nourrisson.
- 2° Une phase de réaction avec une première manifestation d'immunité active chez le petit enfant.
- 3° Une phase où un certain degré d'immunité est acquis et où les manifestations de l'infestation vont diminuer et qui correspond aux enfants à partir de 6 ans.

*
* *

Cet exposé nous amènera à deux conclusions épidémiologiques :

- 1° L'enfant africain, infesté dès sa naissance par l'hématozoaire, court un danger vital principalement comme nourrisson, mais encore comme petit enfant. Ce n'est que vers 6 ans qu'une immunité acquise lui permet de mieux résister à l'infestation.
- 2° Dès l'âge de 3 mois et ceci jusqu'à 6 ans, l'enfant africain constitue le principal réservoir de virus du paludisme.

Nous tirerons de ces conclusions quelques conséquences pratiques concernant la prophylaxie du paludisme en A. E. F.

Tout d'abord peut-on craindre que cette chimioprophylaxie infantile empêche l'enfant d'acquérir une immunité active ? Nous ne le pensons pas. En effet, l'apport des hématozoaires chez les enfants reste le même. Ces hématozoaires sont détruits par les antimalari-

ques de synthèse mais ils conserveraient et exerceraient au maximum leurs propriétés antigéniques potentielles. Des expériences sur l'homme faites par BOYD et KITCHEN se sont avérées concluantes en partant du *Plasmodium vivax* chez des sujets préalablement traités par un antimalarique de synthèse. Longtemps après l'inoculation vaccinale qui avait suivi la cure de chimioprophylaxie antipalustre, ces sujets n'ont réagi à une nouvelle infestation que par des manifestations morbides très atténuées. Nous sommes en droit de penser que ce qui se produit avec le *Plasmodium vivax* doit avoir lieu avec les autres hématozoaires.

Quelles seront donc les principes de cette chimioprophylaxie?

Cette chimioprophylaxie collective chez les enfants africains devra s'adresser aux enfants de 0 à 6 ans c'est-à-dire aux enfants d'âge préscolaire.

Elle devra être :

- précoce : commencée dès la naissance,
- poursuivie : jusque vers 6 ou 7 ans.

Si cette chimioprophylaxie préscolaire peut être généralisée, nous verrons les courbes démographiques s'élever non seulement par suite de la diminution de la mortalité infantile, mais encore à cause de l'abaissement de la morbidité par le paludisme puisqu'une conséquence de cette chimioprophylaxie sera la stérilisation du principal réservoir de virus de la maladie.

D'autre part, il serait souhaitable d'étendre cette chimioprophylaxie antipalustre aux femmes enceintes pour éviter les risques de prématurité et de paludisme congénital.

Section Antipalustre du S. G. M. H. P. de l'A. E. F.

FRÉQUENCE DES LOCALISATIONS HYDATIQUES CHEZ L'HOMME ET LE BÉTAIL

Par J. BALENGER (*)

Tandis que les publications datant de 30 à 50 années signalent de façon constante une prédominance accusée de l'hydatidose hépatique chez l'homme, les statistiques récentes marquent une régression de la localisation hépatique au profit du poumon, lequel, pour certaines d'entre elles, est même l'organe le plus parasité.

Y a-t-il lieu de considérer cette variation comme une modification des affinités biologiques du parasite, comme un argument en faveur

(*) Séance du 18 avril 1957.

de la théorie bronchogène de BIRD, ou comme la conséquence d'une évolution des moyens d'exploration organique?

Bien qu'il soit difficile de répondre catégoriquement à ces questions, nous nous proposons, dans ce mémoire, de comparer quelques statistiques anciennes à d'autres récemment établies, en essayant de les discuter et en faisant l'apport de celle qu'une récente enquête épidémiologique (1, 2) nous a permis de dresser tant chez l'homme que chez le bétail.

Evolution de la fréquence des localisations hydatiques chez l'homme depuis quelques années.

Années	Pourcentage des localisations hydatiques				Références
	Foie	Poumon	Rate	Rein	
1911	74,5	8,6	2,3	2,1	DEVÉ (10)
1913	74,9	8,5	2,3	2,1	DEVÉ (11)
1920-1928.	67,4	16,0			TOOLE (22)
1930	63,2	15,3		3,2	PEJCCI (18)
1929-1935.	60,4	28,2			CEROUANOS, TOOLE (6)
1930-1947.	64,0	25,5			SUIC (21)
1936-1949.	59,9	30,0	2,1	1,1	MACCAS (16)
1941-1950.	58,3	30,5	2,0	1,1	MACCAS (16)
1945-1950.	29,4	47,0	1,9		DELVOYE (9)
1946-1951.	29,3	53,3	4,0		RENAULD (19)
1946-1951.	20,6	72,6		2,2	STOJANOVIC (20)

Ces quelques pourcentages, que nous avons choisis entre bien d'autres, traduisent un accroissement de la localisation pulmonaire.

Les 134 cas que nous avons relevés, de 1948 à 1953, dans le Sud-Ouest de la France, se répartissent avec la fréquence organique suivante :

	Nombre de cas	Pourcentages
Foie	66	49,2
Poumon.	52	30,8
Péritoine	7	5,2
Rein gauche	3	2,2
Muscle	3	2,2
Os	2	1,5
Pancréas	1	0,7

Ces valeurs sont en accord avec l'évolution généralement constatée : accroissement de la localisation pulmonaire hydatique chez l'homme.

En terminant ce paragraphe de l'hydatidose humaine, nous rap-

portons quelques valeurs qui montrent une atteinte plus fréquente du poumon droit.

	Poumons parasités (Pourcentages)		
	Droit	Gauche	Droit + Gauche
GENTIL et CONDE (13).	54,8	38,8	6,4
STOJANOVIC (20)	50,0	37,5	12,5
BREHANT (5)	52,0	48,0	
LEGENDRE (15).	77,5	17,5	5,0

Ainsi, l'hydatidose pulmonaire prend une part croissante dans le parasitisme humain et cela quels que soient les pays. La compétence de MACCAs et de KOURIAS en hydatidologie leur permet d'écrire en 1951 : « tandis qu'en 1928, nous rencontrions moins de 15,5 o/o de kystes du poumon, en 1937 ces chiffres passaient à 22,2 o/o, en 1938 à 25,4 o/o. Aujourd'hui sur un total de 1.453 cas, 30 o/o concernent le poumon, 38,8 o/o si nous considérons seulement le nombre de cas traités durant les 14 dernières années » (17).

Théorie de l'infestation bronchique.

Pour expliquer les 35 o/o des cas d'hydatidose pulmonaire qu'ils rapportent en 1951, KOVACEVIC et KRATIC (14) admettent la théorie bronchogène de BIRD (3) : pénétration de l'embryon hexacanthe par les voies respiratoires. « Les malades que nous observons sont originaires du territoire de Bosnie-Herzégovine où le climat est sec et venté. Il paraît être assez logique d'incriminer l'infestation bronchique » (14).

KOVACEVIC et KRATIC écrivent dans leur article que cette hypothèse de l'infestation bronchique par les œufs du Ténia échinococque, émise par BIRD en 1877, « était confirmée ultérieurement par les travaux de DEVÉ, qui, insufflant les œufs de Ténia dans les poumons, reproduit le kyste hydatique ». Cette affirmation est en contradiction formelle avec les expériences de DEVÉ à la suite desquelles cet auteur conclut : « Ainsi, quoique théoriquement concevable, la porte d'entrée respiratoire, trachéo-bronchique, des kystes hydatiques du poumon n'a pas été démontrée jusqu'ici. En revanche, la porte d'entrée digestive de l'échinococcose pulmonaire (*) a été établie expérimentalement par nous... Finalement, l'apport des embryons par la voie digestive paraît bien constituer l'unique mode de pénétration du parasite hydatique dans l'organisme de l'homme, comme dans celui des animaux » (1) (12, p. 107 et 108).

(*) En italique dans le texte.

Les expériences de DEVÉ sont suffisamment démonstratives pour écarter la théorie de l'infestation hydatique par inhalation. D'ailleurs, même si un tel mécanisme ne pouvait être rejeté, il ne permettrait pas d'expliquer l'accroissement, généralement relevé, de la fréquence pulmonaire, car il ne constitue pas un mode d'infestation nouvellement apparu.

*Théorie des variations des affinités organiques.
de l'hydatide.*

Ayant exclu la théorie bronchogène, on peut alors penser à une variation des affinités biologiques du parasite ; l'embryon hexacanthé, autrefois attiré par le foie, le serait aujourd'hui davantage par le poumon. L'échinococcose du bétail, étudiée à l'abattoir, va nous permettre de discuter cette hypothèse.

D'après les statistiques établies en Uruguay par BREGANTE (4) et en Tunisie par COUSI (7), nous avons pu calculer les pourcentages des localisations parasitaires par rapport au nombre de viscères saisis.

Pourcentages des viscères saisis.

1° Calculés d'après la statistique de BREGANTE, 1948-1950 :

	Foie	Poumon
Bouvillons	57,0	43,0
Vaches	56,6	43,4
Taureaux	54,4	45,6
Bœufs	55,4	44,6
Veaux de lait	53,6	46,4
Bovidés	56,7	43,3

2° Calculés d'après la statistique de COUSI, 1949 :

Taurillons	46,3	53,7
Vaches	50,0	50,0
Bœufs	48,7	51,3
Veaux	38,7	61,3
Bovidés	47,9	52,1
Ovidés	49,5	50,5
Porcins	50,0	50,0

D'après ces valeurs, les hydatidoses hépatiques et pulmonaires ont des fréquences comparables.

Des relevés ont été faits, à notre intention, par les Vétérinaires

Directeurs des Abattoirs des villes importantes du Sud-Ouest, nous retiendrons seulement ceux qui comportent un nombre suffisant de saisies pour qu'il puisse être question de pourcentage.

	Bovins		Ovins		Porcins	
	Foie	Poumon	Foie	Poumon	Foie	Poumon
Bordeaux, 1952	77,5	22,5	67,5	32,5	100	
Pau, 1953	56,7	39,9	83,9	16,1	75,7	18,6
Bayonne, 1953	66,6	33,3	63,1	36,9	59,8	40,2
Mauléon, 1953	72,2	27,8	72,4	27,6	100	
Angoulême, 1953					100	
Mont-de-Marsan, 1953 . . .	75,0	25,0	23,4	76,6	86,6	13,4
Total	73,3	26,7	67,8	38,2	95,7	4,3

Les résultats ainsi présentés ont l'inconvénient de ne pas tenir compte de la possibilité de coexistence des lésions et de ne pas mettre en évidence si les localisations pulmonaire et hépatique sont simultanées ou indépendantes.

Une telle notion ne peut être acquise que si le détail des infestations parasitaires est indiqué pour chaque animal, comme cela a été fait à Bayonne à notre demande par le Docteur Vétérinaire DARRIEUX-JUSON :

— Le parasitisme hépatique est constant chez les porcs dont l'atteinte pulmonaire que manifestent 67,9 o/o d'entre eux n'est jamais isolée.

— Tous les bovins ont une hydatidose hépatique ; 50 o/o d'entre eux sont également atteints au niveau des poumons.

— 94,7 o/o des ovins ont leur foie parasité ; 52,7 o/o d'entre eux ont également une atteinte pulmonaire, 5,3 o/o ne présentent qu'une localisation pulmonaire.

L'hydatidose hépatique du bétail apparaît ainsi être majeure dans notre région du Sud-Ouest. Ce fait ne plaide pas en faveur de la théorie d'une évolution dans le comportement du *Ténia échinocoque*. Le parasite, qui, en 1911 permettait à Devé de noter 74,5 o/o de kystes hydatiques au niveau du foie et 8,6 o/o pulmonaires et qui nous fournit en 1953 les pourcentages respectifs de 49,2 et 30,8 n'aurait subi une variation organique que vis-à-vis de l'homme, puisque pour le bétail les fréquences hépatiques et pulmonaires sont sensiblement égales en Tunisie, la prédominance hépatique est sensible en Uruguay et très importante dans nos statistiques qui notent même une localisation hépatique constante chez les porcins et les bovins.

CONCLUSIONS

La théorie bronchogène de l'infestation échinococcique, non plus que l'hypothèse de l'évolution biologique du Ténia échinocoque n'expliquent pas l'accroissement généralement constaté de l'hydatidose pulmonaire chez l'homme.

La cause est autre. La maladie hydatique est essentiellement chronique et les fréquences que rapportent les statistiques humaines ne sont qu'un reflet déformé du parasitisme de fait. Le nombre de personnes parasitées est bien supérieur au nombre de celles qui manifestent la maladie. *Les pourcentages établis d'après les données cliniques, et que nous avons rapportés, ne correspondent qu'à une apparence : ils traduisent la souffrance et non le parasitisme.*

La fréquence réelle des localisations hydatiques ne peut être établie qu'à l'autopsie. Pour une variation dans des statistiques cliniques, c'est une cause clinique qu'il faut rechercher et non une origine spécifiquement parasitaire.

Certains auteurs (DEMIRLEAU (8), MACCAS et KOURIAS (17)) signalent que leurs statistiques sont faussées par leur spécialisation thoracique ou leur compétence dans l'hydatidose pulmonaire. C'est là une remarque importante. Mais surtout, la sensibilité pulmonaire, l'amélioration des méthodes d'exploration de cet organe, la multiplication des examens systématiques en vue du dépistage de la tuberculose, les progrès de la chirurgie thoracique sont autant de faits qui, à notre avis, constituent la seule explication du nombre croissant des kystes hydatiques pulmonaires humains.

*Laboratoire de Zoologie et de Parasitologie
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie
de Bordeaux.*

BIBLIOGRAPHIE

1. BAILLENGER (J.). — Etat actuel de l'épidémiologie de l'échinococcose dans le Sud-Ouest de la France. *Thèse Méd.*, Bordeaux, 1956.
2. BAILLENGER (J.). — Une zone française d'endémie hydatique : les Pyrénées. *Annales de Parasitologie*. Sous presse.
3. BIRD (D.). — On hydatid of the lungs. Melbourne, 1877.
4. BREGANTE (J.-L.). — Fréquence de l'hydatidose chez les bovins en Uruguay. *L'Afrique française chir.*, 1951, 375-378.
5. BREHANT (J.). — Traitement chirurgical des kystes hydatiques pulmonaires. *L'Afrique française chir.*, 1951, 293-300.
6. CEROUANOS et VOOLE. — In MACCAS.

7. COUSI. — L'échinococcose en Tunisie. *L'Afrique française chir.*, 1951, 379-386.
8. DEMIRLEAU (J.). — Considérations sur le traitement des kystes hydatiques du poumon d'après 130 observations. *L'Afrique française chir.*, 1951, 153-160.
9. DELVOYE. — Remarques statistiques et techniques sur le kyste hydatique dans les hôpitaux militaires de l'Algérie. *L'Afrique française chir.*, 1951, 387-391.
10. DEVÉ (F.). — Echinococcose primitive expérimentale. Kyste hydatique et terrain. *C. R. Soc. Biol.*, 1911, 71, 460-462.
11. DEVÉ (F.). — Les localisations de l'échinococcose primitive chez l'homme. Nécessité d'une révision des statistiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, 73.
12. DEVÉ (F.). — L'échinococcose primitive. Masson éd., Paris, 1949, 362 p.
13. GENTIL (F.) et CONDÉ (J.). — Quelques localisations rares du kyste hydatique. *L'Afrique française chir.*, 1951, 294-300.
14. KOVACEVIC et KRATIC. — Le problème de l'échinococcose pulmonaire. *L'Afrique française chir.*, 1951, 169-172.
15. LEGENDRE (R.). — Les kystes hydatiques du poumon. *Bull. Méd. de Cambo*, 1956, 74, 3-31.
16. MACCAs (M.). — Statistique de l'échinococcose humaine en Grèce. *L'Afrique française chir.*, 1951, 408-415.
17. MACCAs (M.) et KOURIAS (B.). — Notre expérience du traitement chirurgical des kystes hydatiques du poumon d'après 450 cas opérés. *L'Afrique française chir.*, 1951, 193-200.
18. PEJČIĆ. — In STOJANOVIC et VUJADINOVIC.
19. RENAULD (J. M.). — Traitement chirurgical du kyste hydatique pleuro-pulmonaire. *L'Afrique française chir.*, 1951, 213-216.
20. STOJANOVIC (G.) et VUJADINOVIC (B.). — Nos expériences en clinique et le traitement chirurgical du kyste hydatique de localisations diverses. *L'Afrique française chir.*, 1951, 342-350.
21. SUIC (M.). — L'échinococcose en Yougoslavie. *L'Afrique française chir.*, 1951, 427-430.
22. TOOLE (H.). — In MACCAs.

NOTE SUR LES RELATIONS DE L'ONCHOCERCOSE ET DE LA SYPHILIS AU SOUDAN

PAR ROGER D'HAUSSY, ROBERT PFISTER, JEAN-MARIE RIT et GUY BRETEAU (*)

La fréquente existence de réactions sérologiques positives chez les onchocerciens nous a conduit à nous demander s'il n'y avait pas interaction entre l'onchocercose et la syphilis dans ce pays où les deux maladies sont si répandues.

Nous avons voulu répondre à deux questions :

1° Y a-t-il de fausses réactions sérologiques positives chez les onchocerciens ?

(*) Séance du 13 mars 1957.

2° La syphilis a-t-elle une action sur l'évolution de l'onchocercose et en particulier sur l'apparition des lésions du fond de l'œil ?

1° Il est classique de répéter que les filarioses donnent de fausses réactions syphilitiques. Cette notion, vraie peut-être il y a quelques années, alors que la sérologie utilisait des antigènes peu spécifiques, nous semble actuellement erronée en ce qui concerne du moins l'onchocercose.

Pour en apporter une preuve nous avons entrepris en décembre 1954 dans la région de Bamako une enquête dans cinq villages situés au bord du fleuve Baoulé, affluent du Niger à environ 150 km. à l'est de Bamako (Subdivision de Dioïla).

Ouolokoro	37 habitants
Tonga	63 »
Djila	223 »
Natiana	47 »
Dandjia	78 »

Au total, 448 habitants comprenant 258 adultes et 190 enfants.

Détermination du taux des onchocerquiens.

Ont été considérés comme onchocerquiens les sujets porteurs :
— soit d'un kyste à localisation typique,

TABLEAU I

Villages	Visites		Onchocerquiens		Pourcentage o/o		Moyen o/o
	E	A	E	A	E	A	
Ouolokoro . .	15	22	7	20	46	90	72
Tonga . . .	22	41	9	37	40	90	73
Djila . . .	117	106	43	100	36	94	64
Natiana . . .	18	29	13	29	72	100	89
Dandjia . . .	18	60	11	59	61	98	89
Total . . .	190	258	83	245	43	94	73

Taux des sérologies.

	S +	S D	S —
Population totale	64 o/o	7 o/o	28 o/o
Population onchocerquienne . .	63 o/o	8,5 o/o	28 o/o
Population non onchocerquienne .	69 o/o	1,4 o/o	28,9 o/o
S + = Sérologie positive S D = Sérologie dissociée S — = Sérologie négative			

Remarque. — Le hasard nous a conduits dans des villages à très forte endémicité. Toutes les régions ne sont pas aussi fortement touchées par la syphilis. Le pourcentage moyen est en général de 15 à 20 o/o.

Nous constatons que le taux des sérologies positives y compris les sérologies dissociées est le même dans les deux groupes :

71,5 o/o chez les onchocerquiens,
 70,4 o/o chez les non-onchocerquiens.

N. B. — Il s'agit certainement de syphilis et non de pian à cause du contexte clinique. Le pian est rare en savane. Nous avons au contraire dans cette population des stigmates cliniques de kératites interstitielles, surdités et lésions cutanées gommeuses d'origine syphilitique.

Le Kline quantitatif pratiqué 168 fois a donné 143 taux supérieurs au 1/8 comme le montre le tableau suivant :

TABLEAU III

N	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
5	10	10	44	47	27	25

Le Test de Nelson (TIT) a confirmé par ailleurs l'atteinte tréponémique spécifique (voir tableau IV). De nombreux sérums 50 o/o se sont malheureusement révélés toxiques parce que nous avons déjà mis ces malades onchocerquiens au traitement par le moranyl.

Pour tous les autres, il y a concordance entre la sérologie classique et le TIT et cela dans un village où l'onchocercose touche 100 o/o des adultes. L'onchocercose n'est donc pas la source de sérologies faussement positives.

TABLEAU IV

N ^o du sujet	Kolmer	Kline	VDRL	K. Quant.	T. I. T.
326	+	++	++		100 o/o
327	+++	+++	+++		100 o/o
329	+	+++	+		95 o/o
330	—	—	—		4 o/o
333	+++	+++	+++		90 o/o
334	+++	+++	+++		100 o/o
335	+++	+++	+++	1/8	100 o/o
337	—	—	—		40 o/o
342	+++	+++	+++	1/16	100 o/o
345	+++	+++	++++	1/4	100 o/o
346	+++	+++	+++	1/16	100 o/o
356	—	—	—		0 o/o
359	—	—	—		0 o/o
360	+++	+++	+++	1/16	100 o/o
361	+++	+++	+++	1/28	100 o/o
366	+	—	—		60 o/o

2° Mais en plus de la coexistence certaine de ces deux affections, existe-t-il des interactions qui pourraient expliquer la fréquence et la forme des atteintes oculaires?

On sait que la plupart des auteurs rapportent à l'onchocercose les lésions suivantes.

Au niveau du segment antérieur : kératite ponctuée sous-épithéliale, iritis et atrophie irienne.

Au niveau du segment postérieur :

a) Une chorioretinite d'un type particulier bien décrite par RIDLEY accompagnée ou non d'atrophie optique secondaire.

b) Une atrophie optique primitive sur laquelle insistent TOULANT et ROBINEAU.

c) Des lésions du type capillarose, « drüsen », « colloid bodies », etc.

Nous avons résumé dans le tableau V les lésions présentées par les onchocerquiens dont la sérologie a pu être pratiquée.

TABLEAU V

Villages	Lésions S. A.				Lésions S. P.								
	Kératite		Iritis		Capillarose			Cho. R. ± A. O. S.			A. O. P.		
	S+	S—	S+	S—	S+	SD	S—	S+	SD	S—	S+	SD	S—
Ouolokoro .	6	1	2	1			1	3					
Tonga . .	11	10	5	6	4		5	2		2			1
Djila. . .	39	21	27	7	4		5	6		1	1		
Natiana. .	20	10	8	2	1		1	3		1	1		
Dandjia. .	16	21	7	7	3	1		1	2				
Total . .	92	63	49	23	12	1	12	15	2	4	2		1
Taux o/o .	60	40	68	31,9	48	4	48	71,4	9	19	66	0	33

S. A. = Segment antérieur

S. P. = Segment postérieur

Cho. R. ± A. O. S. = Chorioretinite avec ou sans atrophie optique secondaire

A. O. P. = Atrophie optique primitive

Il semble ressortir de ce tableau :

1° *Pour les lésions du segment antérieur :*

Les taux de fréquence des lésions du segment antérieur chez les sujets à sérologie positive et négative sont comparables aux taux de fréquence des sérologies positives et négatives de l'ensemble de la population considérée.

2° *Pour les lésions du segment postérieur :*

a) En ce qui concerne les chorioretinites avec ou sans atrophie optique associée, 17 cas sur 21, soit 80 o/o des cas, apparaissent chez des onchocerquiens à sérologie positive. Ce taux, compte tenu du petit nombre des cas, correspond sensiblement à la fréquence des sérologies positives dans la population considérée.

Il ne semble donc pas exister de relation entre l'existence d'une sérologie positive et l'apparition de chorioretinite chez l'onchocerquien.

Cette notion a d'ailleurs été confirmée par la suite à l'Institut d'Ophtalmologie.

C'est ainsi que, sur une série de 67 onchocerquiens provenant de divers villages de la région de Bamako, les sérologies pratiquées ont donné les taux suivants :

Sérologie +	62 o/o
Sérologie dissociée	6 »
Sérologie négative	31 »

Sur ces onchocerquiens, 26 étaient porteurs de chorioretinite, 18 avec une sérologie positive (= 69 o/o) et 8 avec une sérologie négative (= 30 o/o).

b) Pour les atrophies optiques simples, les chiffres nous paraissent trop faibles pour être statistiquement valables. Signalons cependant que sur la même série des 67 onchocerquiens, nous avons relevé 5 atrophies optiques chez des sujets à sérologie positive.

c) Le taux des capillaroses enfin paraît relativement plus élevé chez des sujets à sérologie négative.

En réalité, ces dernières lésions (capillarose, drüsen, colloid bodies) ne relèvent pas de l'onchocercose.

L'examen ophtalmologique systématique et approfondi d'une population de 429 africains (villages de Marako et de Bananzolé, au sud de Bamako) nous a montré que le taux de capillaroses, dans ces villages absolument indemnes d'onchocercose, s'élevait à 9 o/o, alors qu'il n'est que de 5,8 o/o dans les villages de la région de Dioïla.

CONCLUSION

Cette enquête nous a permis de démontrer :

1° Que les sérologies syphilitiques positives rencontrées chez les onchocerciens ne sont pas de fausses réactions syphilitiques positives, mais bien le témoin d'une tréponématose associée ;

2° qu'il n'existait pas de relation entre cette tréponématose associée et les formes des atteintes oculaires de l'onchocercose.

Institut d'Ophtalmologie Tropicale.

Secteur 52 du S. G. H. M. P.

Laboratoire Central de Biologie du Soudan, à Bamako.

ÉTAT HÉMATOLOGIQUE DE L'AFRICAINNE DAKAROISE PENDANT LA GROSSESSE

Par J. LINHARD, R. MAZAUD et J. MOISSINAC (*)

Les besoins métaboliques de la femme enceinte et les modifications de son équilibre hormonal justifient largement l'apparition de troubles hématologiques.

Abstraction faite des désordres sanguins antérieurs à la grossesse, on sait qu'il existe au cours de la gestation une hydrémie habituelle qui simule une anémie vraie : le nombre d'hématies et le taux d'hémoglobine sont diminués, mais il manque les signes qualitatifs habituels de toute anémie (anisocytose, poikilocytose, polychromatophilie).

Il est évident que l'état de santé antérieur, le mode d'alimentation et peut-être la fréquence des grossesses peuvent intervenir et transformer en pathologique une anémie jusque-là physiologique et d'hémodilution.

Il nous a donc paru intéressant d'étudier l'état sanguin moyen des gestantes africaines normales examinées à l'Hôpital Principal de Dakar : femmes de militaires ou de fonctionnaires, elles représentent des échelons sociaux très variés, à l'exclusion toutefois des classes très pauvres. Elles sont donc soumises à l'alimentation locale traditionnelle et ne sont jamais dénutries sauf maladie grave dont le cas n'est pas envisagé dans notre statistique.

Aussi faut-il d'abord préciser les constantes de la femme africaine puis fixer le terme approximatif au-dessous duquel une femme sera dite réellement anémique.

(*) Séance du 13 mars 1957.

Le premier point a été précisé par l'un de nous grâce à 50 bilans qui nous donnent les moyennes ci-dessous indiquées (tableau I). Le chiffre de 50 témoins n'est certes pas très important ; néanmoins, les valeurs trouvées pour les diverses constantes sont tellement comparables à celles établies après l'étude simultanée de 400 africains dakarois adultes mâles que nous avons pensé pouvoir les accepter. On retrouve, bien sûr, dans nos normes la diminution habituelle dans le sexe féminin du nombre d'hématies, du taux d'hémoglobine :

TABLEAU I

*Constantes sanguines moyennes
de la femme africaine dakaroise.*

G.R.	Hbg	T.G.	C.G.	V.G.T.	V.G.M.	D.M.	S	e	I.S.	G.B.	P.N.	P.E.	Pl	Proth	V.S.	D.S.	D.P.
4.3	13.9	32	33	41.5	97	7.2	134	2.4	3	7.1	46	10	170	88	14	52	27

G.R. = Nombre d'hématies en millions par mm³.
 Hbg = Poids (en grammes) d'hémoglobine pour 100 ml. de sang.
 T.G. = Teneur globulaire moyenne en hémoglobine (en microgrammes).
 C.G. = Coconcentration globulaire moyenne en hémoglobine.
 V.G.T. = Volume globulaire total (en centimètres cubes pour 100 cm³ de sang total).
 V.G.M. = Volume globulaire moyen (en microns cubes).
 D.M. = Diamètre globulaire moyen (en microns).
 S = Surface globulaire moyenne (en microns carrés).
 e = Epaisseur globulaire moyenne (en microns).
 I.S. = Indice de sphéricité.
 G.B. = Nombre de globules blancs en milliers par millimètre cube.
 P.N. = Pourcentage des polynucléaires neutrophiles.
 P.E. = Pourcentage des polynucléaires éosinophiles.
 Pl = Nombre de plaquettes par millimètre cube.
 Proth = Pourcentage de prothrombine.
 V.S. = Vitesse de sédimentation sanguine.
 D.S. = Densité du sang total.
 D.P. = Densité du plasma.

Ces constantes établies, il restait à fixer chez nos gestantes africaines la limite inférieure de l'anémie gravidique physiologique. On sait que pour la femme de race blanche en état normal, les chiffres suivants sont admis :

G. R. = 4.200.000,

Hbg = 13 g. 5/litre (84 o/o),

V. G. T. = 36 o/o,

chiffres qui au cours de la grossesse, sont ramenés aux niveaux suivants :

G. R. = 3.600.000,

Hbg = 10 g. (65-70 o/o),

V. G. T. = 33 o/o.

En effet, si au cours de la grossesse le volume du plasma est de 40 o/o plus élevé et le volume du sang de 33 o/o plus élevé que normalement, le volume total des hématies n'est augmenté que de 20 o/o.

On peut donc admettre avec BETHELL qu'il y a chez la femme blanche enceinte anémie pathologique lorsqu'il y a :

moins de 3.500.000 globules rouges,
moins de 10 g./litre (65 o/o) d'Hbg.

L'état sanguin normal de l'Africaine dakaroise étant semblable à celui de la femme blanche, on peut donc adopter la même correction pour fixer la limite inférieure de l'anémie physiologique gravidique pour les gestantes africaines.

DE MUYNCK, au Congo belge, DE GOUVEA, DE CASTRO LOBO et MORAND au Brésil ont, au contraire, dû corriger ces critères de référence, en fonction de l'état anémique habituel prégestatif des femmes qu'ils examinaient et n'admettre une anémie gravidique vraie qu'au-dessous du taux de 50 o/o d'hémoglobine de 2 millions 500.000 globules rouges.

Ces bases étant posées, nous avons porté notre étude successivement sur les hématies, les leucocytes, les plaquettes, le plasma et le sérum.

Nous nous sommes volontairement limités aux cinq derniers mois de la grossesse car, d'une part les femmes africaines consultent rarement d'une manière précoce, et d'autre part, la fréquente difficulté à faire préciser la date des dernières règles rend trop approximative chez ces gestantes l'appréciation exacte de l'âge d'une grossesse à son début.

Nous analyserons nos divers résultats, d'une part, d'une manière globale suivant le degré d'anémie, d'autre part dans le temps suivant l'âge de la grossesse et suivant le nombre des grossesses. Ces résultats sont résumés dans les tableaux IV et V.

I. — Modification relative aux hématies.

A. — MODIFICATIONS EN FONCTION DU DEGRÉ D'ANÉMIE

1° Nombre des hématies.

La réalité de l'anémie gravidique est confirmée par le fait que 75 o/o de nos sujets ont un nombre d'hématies/mm³ inférieur à la moyenne de l'Africaine dakaroise.

— 28 o/o de ces anémiques, soit 21 o/o du total des gestantes,

ont un nombre d'hématies inférieur au minimum (3.500.000) admis pour l'anémie gravidique physiologique. La courbe n° 1 exprime cette répartition des cas suivant les différents degrés d'anémie.

2° Volume globulaire moyen (V. G. M.).

Il fut calculé, connaissant le volume globulaire total (V. G. T.) et le nombre d'hématies/mm³. Le V. G. T. nous ayant toujours paru normal, nous n'insisterons pas à son sujet.

Il existe nettement une petite diminution de V. G. M. pour les états sanguins gravidiques non pathologiques, malgré l'opinion de TYSOE pour qui le volume globulaire moyen reste constant, cette tendance microcytaire est classique, mais ce volume croît peu à peu dans notre statistique quand l'anémie s'aggrave pour s'élever rapidement quand on entre dans la tranche des anémies pathologiques (cf. courbe n° 2).

3° Diamètre globulaire moyen (D. G. M.).

Sa valeur est au contraire à peu près constante, égale à 7,1 μ quel que soit le degré de l'anémie et à peine inférieure au D. G. M. de l'état non gravis (7,2 μ) (cf. tableau II).

4° Épaisseur globulaire moyenne et indice de sphéricité.

Ici encore le chiffre est normal pour une Africaine, mais supérieur à l'épaisseur globulaire moyenne de l'Européen non seulement d'après les normes classiques mais aussi d'après les mesures faites à Dakar par l'un de nous conjointement aux mesures effectuées chez les Africains : 2,2 μ chez nos sujets de race blanche et 2,4 μ chez ceux de race noire. Cependant, cette épaisseur s'accroît encore quand on atteint les anémies pathologiques, s'élevant jusqu'à 2,7 μ (nous avons calculé cette épaisseur d'après la formule donnée par CAZAL) :

$$e = \frac{4v}{\pi d^2} = \frac{14v}{11d^2}$$

où v représente le volume globulaire moyen,
 d représente le diamètre globulaire moyen.

Le calcul de l'indice de sphéricité :

$$I = \frac{d}{e}$$

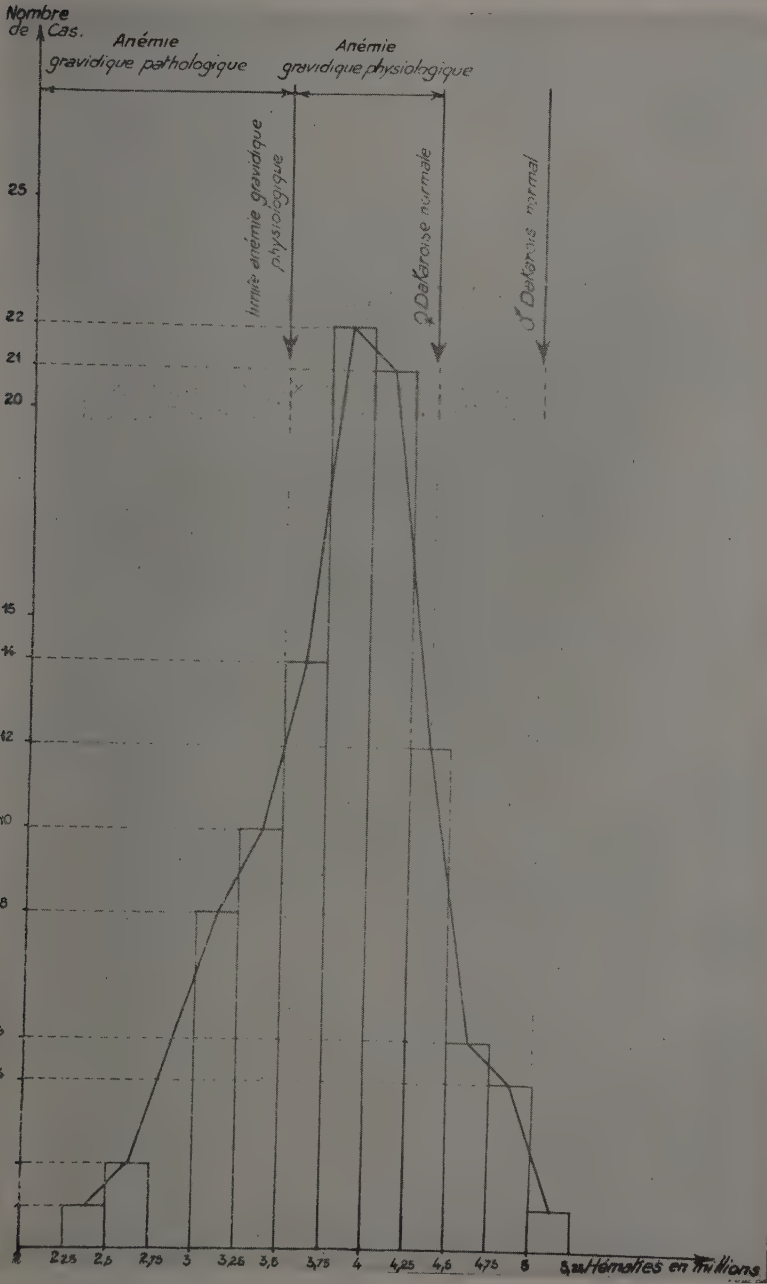


Fig. 1.

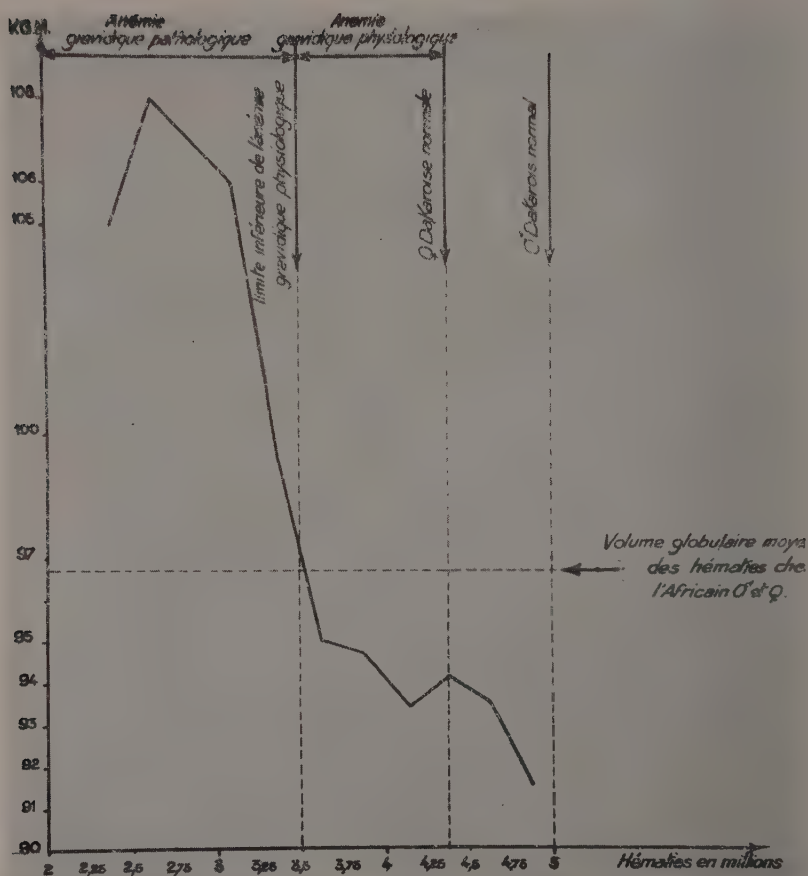


Fig. 2.

donne chez l'Européen un chiffre normal de 3,2, chez l'Africain des deux sexes un chiffre de 3, un peu faible et signifiant une tendance sphérocytaire. Chez la femme enceinte, nous trouvons 2,9 et 2,6 suivant que l'anémie reste ou ne reste pas physiologique ; la *sphérocytose* se précise donc nettement.

5° Surface globulaire moyenne.

Cette notion est intéressante car elle seule renseigne sur les dimensions exactes de l'hématie, alors que le volume, le diamètre et l'épaisseur peuvent se modifier quand la cellule change de forme. C'est elle seule qui permet de parler de macrocytose, normocytose, ou microcytose pure. Nous l'avons calculée d'après la formule indiquée par CAZAL :

$$S = \frac{\pi d^2}{e} + \frac{4v}{d} = \frac{11d^2}{7} + \frac{4v}{d}.$$

Contre une moyenne européenne de 129,2 microns et une moyenne africaine de 134 dans les deux sexes, nous avons trouvé un chiffre un peu bas (132,2) dans les anémies gravidiques physiologiques, s'élevant à 136,4 dans la tranche des anémies pathologiques. Nous trouvons donc ici une évolution concordante avec celle du volume globulaire moyen.

Si nous rapportons nos résultats par rapport au tableau ci-dessous proposé par CAZAL (tableau III), nous constatons que la tendance sphérocytaire de l'hématie de l'Africain dakarois des deux sexes se précise pendant la grossesse en même temps que s'établit une minime tendance microcytaire tant que l'anémie reste physiologique et une nette macrocytose quand l'anémie devient pathologique, résultat en désaccord avec ceux de TYSON pour qui l'aspect de l'hématie n'est pas modifié chez la femme enceinte.

L'hématie ainsi définie morphologiquement, nous avons envisagé, par l'étude des constantes hémoglobiniques, sa *valeur fonctionnelle*.

6° Richesse en hémoglobine.

Alors que 21 0/0 de nos gestantes ont un chiffre d'hématies inférieur au chiffre minimum de l'anémie gravidique physiologique, 3 0/0 seulement de nos sujets (cf. courbe n° 3) sont en dessous du minimum physiologique si l'on envisage cette fois la répartition des cas suivant le *taux d'hémoglobine en grammes pour 100 ml. de sang*.

Cette différence s'explique par l'augmentation de la *teneur globulaire moyenne en hémoglobine* qui inférieure à la normale quand la

richesse en hématies est grande, s'élève quand l'anémie s'aggrave, avec une flèche rapide dans la première tranche d'anémies pathologiques (de 3.500.000 à 3.000.000) pour s'effondrer avec les anémies très graves (cf. tableau II).

Ces trois variations de la teneur globulaire moyenne en Hbg résultent, d'une part, de l'augmentation progressive du volume globulaire moyen quand l'anémie s'aggrave (cf. courbe n° 2), d'autre part, d'une nette diminution de la *concentration moyenne en hémoglobine* qui, sensiblement normale et constante jusqu'à trois millions de G. R. s'abaisse notablement pour les anémies plus graves (cf. tableau II). On peut exprimer ceci en disant qu'en passant de 5.000.000 à 3.000.000 de G. R. on voit l'hématie rester à sa concentration hémoglobinique maximum, tandis que son volume croît : la teneur globulaire moyenne s'élève et malgré la diminution des hématies le taux d'hémoglobine en grammes pour 100 ml. de sang ne diminue que faiblement. Au-dessous de 100 millions de G. R., malgré l'augmentation notable du volume globulaire moyen la baisse de concentration hémoglobinique dans chaque globule entraîne une chute brutale du taux d'hémoglobine dans l'unité de volume de sang total.

Toutes nos mesures confirment donc le changement complet qui survient dans le type d'anémie dès qu'on quitte la zone des anémies gravidiques physiologiques : celles-ci sont très légèrement microcytaires par rapport aux normes africaines avec maintien de la concentration globulaire hémoglobinique. Au-dessous de trois millions de G. R., l'hématie augmente son volume en s'épaississant sans s'enrichir en hémoglobine, la concentration hémoglobinique diminue dans chaque hématie ; l'anémie devient macrocytaire et hypochrome.

B. — MODIFICATIONS EN FONCTION DE L'ÂGE DE LA GROSSESSE

Il est admis (MAHON et CHARTRUSSE) qu'abaissé durant les six premiers mois le chiffre d'hématies remonte dans le dernier trimestre de la grossesse pour tendre vers 5.000.000 à terme, avec accroissement simultané de la taille des hématies : nous n'avons pas observé ce phénomène et dans chacun des cinq mois étudiés nous avons trouvé une répartition à peu près semblable des divers degrés d'anémie. Les courbes n° 4 représentant leur fréquence à chacun de ces mois ont un aspect très semblable et placent toutes leur pic maximum dans les limites de l'anémie gravidique physiologique. On note cependant aux 7^e et 8^e mois (cf. tableau IV) une *petite baisse du nombre d'hématies par millimètre cube*. Cette

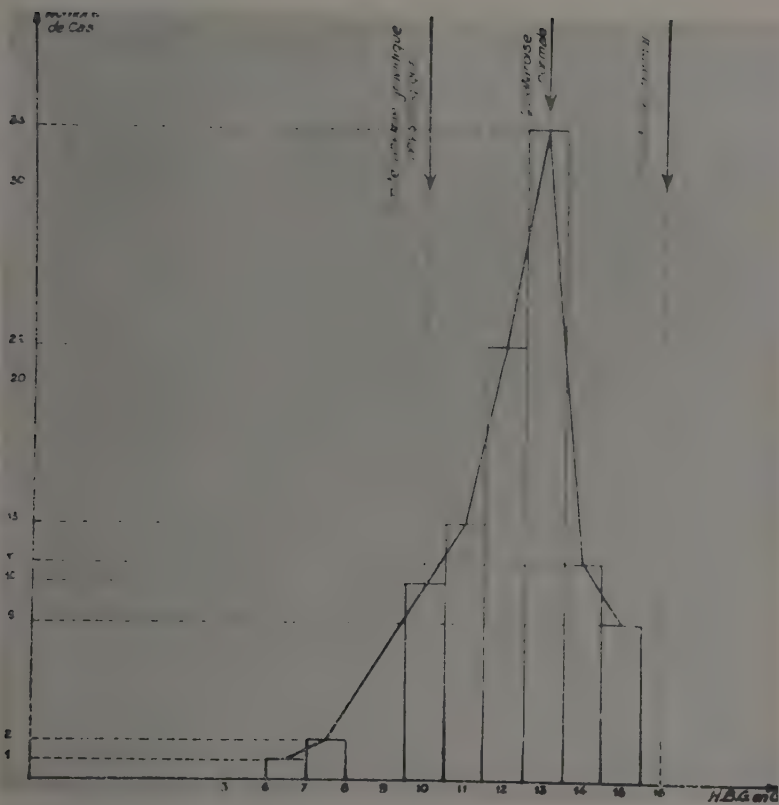


Fig. 3.

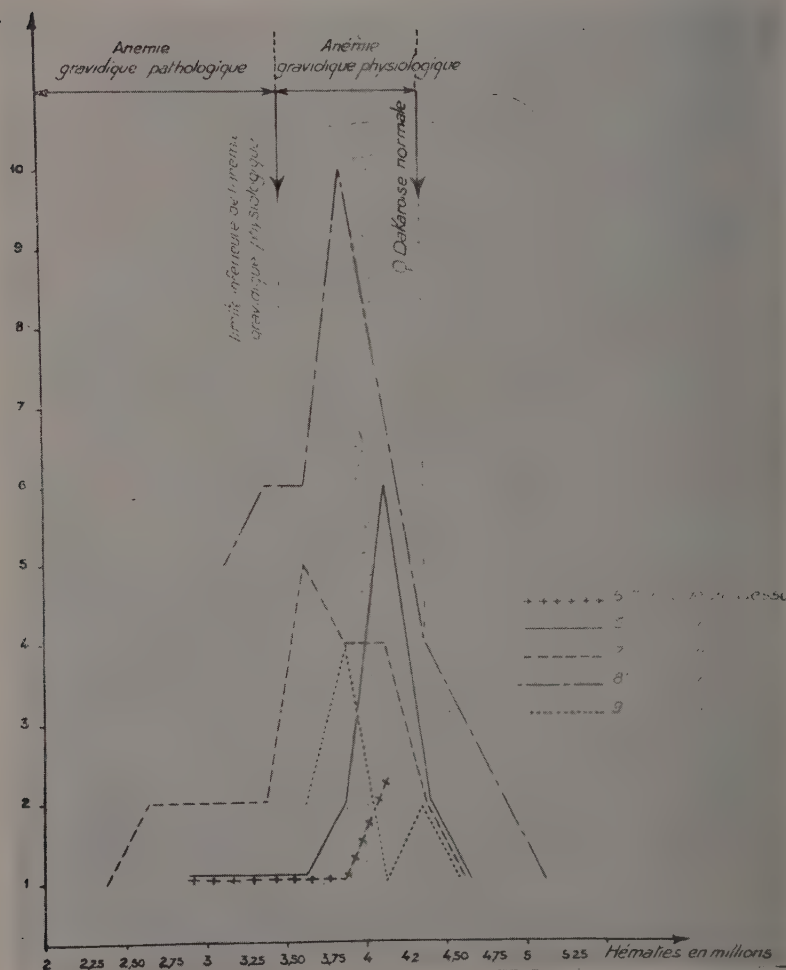


Fig. 4.

variation bien que faible paraît significative car nous noterons à la même période une baisse légère du nombre des leucocytes. Ceci doit résulter d'une augmentation de la phase liquide du sang et correspond à la *baisse progressive du volume globulaire total* du 6^e au 9^e mois (de 41 à 37). Dans ce neuvième et dernier mois nous enregistrons comme presque tous les auteurs une petite réascension du nombre de globules rouges, alors que le volume globulaire total continue cependant à baisser nettement. Il semblerait donc qu'intervienne dans ce dernier mois une microcytose gravidique accrue (V. G. M. = 92; cf. tableau IV).

Pendant cette période de 5 mois la teneur en hémoglobine du sang varie comme le nombre d'hématies par millimètre cube, tandis que les constantes hémoglobiniques globulaires restent fixes. On peut donc au total dire que pendant les cinq derniers mois l'incidence de la grossesse paraît s'exprimer d'une manière assez constante. On note tout au plus un faible degré d'anémie relative par augmentation probable de la masse plasmatique au 7^e et 8^e mois, et une diminution du volume globulaire moyen au 9^e mois, responsable sans doute de la baisse du volume globulaire total alors que l'anémie tend au contraire à se corriger.

C. — INCIDENCE DE LA MULTIPARITÉ SUR L'ANÉMIE

Contrairement à notre attente nous n'avons pas trouvé de relation évidente entre la multiparité et la fréquence de l'anémie. Certes nos *secundi*, *terti* et *quanti gestes* ont une fréquence d'anémies pathologiques (cf. tableau, IV) supérieure à celle des *primi gestes*. Mais on trouve à peu près le chiffre initial à partir de cinq grossesses et au delà. Nous pensons que ceci est dû simplement à la modicité de notre statistique sans qu'il soit nécessaire d'invoquer une situation physiologique spéciale chez la grande multipare.

II. — Variations intéressant les leucocytes.

1^o *Leucocytose.*

De même que LAMBILLON au Congo belge, nous n'avons pas retrouvé la « leucocytose physiologique de la grossesse » de WIRCHOW. Les chiffres trouvés restent toujours dans les limites physiologiques suivant les tranches d'anémie mais montrent une petite baisse de la leucocytose aux 7^e et 8^e mois (cf. tableaux II et IV). NOTTER, TYSOE et coll. ont au contraire observé une leucocytose gravidique qui s'atténue en fin de grossesse.

2° Polynucléose.

Les bilans préalables ont confirmé la relative granulopénie des africains avec des taux de 46 o/o de polynucléaires neutrophiles et de 10 o/o de polynucléaires éosinophiles, soit 56 o/o au total.

Comme LAMBILLON au Congo belge, nous avons constaté l'augmentation relative des polynucléaires qui est représentée dans le tableau I. Pour LAMBILLON, cette modification n'apparaît qu'après le 3^e mois et croît avec l'âge de la grossesse. Dans notre statistique, dès le 5^e mois nous constatons l'augmentation appréciable du pourcentage de polynucléaires (neutrophiles + éosinophiles) : 61,5 o/o contre 56 o/o chez la femme non grávide. Ce chiffre va s'accroître de mois en mois jusqu'à la valeur de 66 o/o que nous avons trouvée au 9^e mois (cf. tableau IV). Il y a donc *polynucléose gravidique relative*, puisque la leucocytose nous est apparue à peu près fixe.

3° Eosinophilie.

Nous vérifions ici la notion classique d'une baisse importante de l'éosinophilie qui passe de 10 o/o chez l'Africaine dakaroise normale à une moyenne de 5 o/o chez la femme enceinte. Cet abaissement est sensiblement constant (cf. tableau IV) au cours des 5 mois de grossesse étudiés. Nous n'avons pas retrouvé les 2 minima du taux des éosinophilies situés au 5^e et au 8^e mois de la grossesse comme le signale VOUILLOUX à Fort-Lamy. Cette éosinopénie moyenne se retrouve d'ailleurs chez la plupart des femmes puisque 8 o/o seulement ont un taux supérieur à 10 o/o d'éosinophiles, taux moyen des femmes africaines de la région. On admet que cette éosinopénie particulièrement nette dans cette population très communément parasitée et donc éosinophilique est le résultat d'une libération d'hormones cortisoniques; ce sont ces hormones qui améliorent temporairement chez la femme enceinte un certain nombre d'affections et en particulier la polyarthrite chronique évolutive. On sait l'heureuse déduction que les physiologistes et les biochimistes tirèrent de ces faits. Ces mêmes hormones ont aussi une action lymphopénisante qui est peut-être responsable de la relative polynucléose gravidique que nous avons observée malgré la diminution en nombre des éosinophiles.

III. — Variations intéressant les plaquettes.

MAHON et CHARTRUSSE (*Encyclopédie médico-chirurgicale*) signalent que pour la majorité des auteurs la gravidité stimulerait la plaquettogénèse et que l'élévation du nombre des plaquettes serait

nette à partir du 4^e mois pour atteindre son maximum avant le travail et revenir à la normale dans les 24 heures suivant l'accouchement. Ils citent l'opinion de REBAUDI et celle de BENHAMOU et NOUCHY qui ont noté des chiffres de 500 à 600.000 plaquettes par millimètre cube. Nos numérations ne nous ont pas montré ce phénomène et nous avons trouvé des chiffres semblables à ceux de la femme africaine non gravide soit qu'on les envisage en fonction du degré d'anémie (cf. tableau II) soit en fonction de l'âge de la grossesse (cf. tableau IV.) WARD et collaborateurs après avoir cité BLAND, FIRST et GOLDSTEIN qui, comme nous, n'ont pas noté de changement appréciable, signalent avoir observé sur 200 numérations une très faible baisse du nombre des plaquettes (140.000 au lieu de 180 000). Nos résultats ne sont donc pas en accord avec ceux de ces auteurs, encore que la variation qu'ils ont enregistrée soit bien faible pour une technique aussi délicate.

IV. — Variations intéressant le taux de prothrombine.

Il semblerait, d'après notre statistique, que le taux de prothrombine soit légèrement inférieur à celui de la femme non enceinte. Ceci dit, nous n'avons pas observé de variations régulières et notables du temps de Quick tant suivant les diverses tranches d'anémie que suivant les mois de grossesse (cf. tableaux II et IV). Notre étude ne nous permet pas de nous prononcer sur une éventuelle baisse survenant dans les derniers jours de la grossesse qu'ont enregistrée OLWIN et ALLEN. Elle s'oppose en tous cas aux autres résultats de ces auteurs qui auraient pu en effet observer, dans la majorité des cas, une augmentation de la prothrombine dès le premier trimestre, augmentation se poursuivant pendant les 6 mois suivants jusqu'à la semaine précédant l'accouchement. La question mérite donc d'être reprise.

V. — Variations intéressant la phase liquide.

1^o Vitesse de sédimentation.

Elle dépend d'abord de la constitution chimique du plasma mais on sait aussi qu'elle est augmentée dans les anémies : nous ne l'envisagerons donc pas par rapport aux différentes tranches d'anémie, mais seulement dans le temps, suivant l'âge de la grossesse : pour OBERMEER, elle s'élève régulièrement de la 8^e à la 40^e semaine. Nous l'avons trouvée, certes, augmentée et pratiquement doublée

par rapport à la femme normale mais constante au cours des 5 mois étudiés (cf. tableau IV).

2° Densité du sang total.

Nous l'avons trouvée régulièrement décroissante au fur et à mesure que l'anémie croît, et inférieure à la normale de la femme dakaroise dès qu'on tombe au-dessous du chiffre normal de globules rouges. Ces constatations sont logiques et banales.

3° Densité du plasma.

Toujours inférieure à la normale (1.027), elle s'abaisse nettement dans la tranche des anémies dites physiologiques (cf. tableau II), ce qui paraît correspondre à l'hémodilution classique. Elle remonte dans le petit nombre de cas d'anémies pathologiques que nous avons observé, ce qui laisse à penser qu'un trouble hémopoïétique ou hémolytique intervient dans ces cas pour diminuer le nombre d'hématies dans un sang relativement peu dilué.

Cette densité plasmatique (tableau IV) ne varie guère au cours des 5 mois de grossesse étudiés (variations maximum 1,1). Il y a donc, dans cette période, au moins une fois apparue l'hypodensité plasmatique gravidique, une évolution parallèle de la protidémie et de l'hydrémie.

CONCLUSIONS

De cette étude hématologique portant sur 100 gestantes africaines dakaroises prises au hasard et toutes enceintes de 5 mois ou plus, nous pensons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

— 75 o/o de gestantes présentent une anémie simple d'hémodilution caractérisée par une microcytose sans sidéropénie globulaire;

— 21 o/o ont un nombre d'hématies pathologiquement bas avec macrocytose et tendance sphérocytaire sans hyperchromie. La charge hémoglobinique de l'hématie (teneur globulaire moyenne) baisse peu quand l'anémie croît mais la saturation hémoglobinique n'est plus atteinte en dessous de 3.000.000 d'hématies au millimètre cube;

— le maintien prolongé de la charge hémoglobinique associé à l'augmentation progressive du volume globulaire moyen quand l'anémie s'aggrave font que le nombre de cas d'anémie pathologique est moindre (3 o/o) quand on tient compte du taux d'hémoglobine en grammes/100 ml de sang que quand on se base sur le nombre d'hématies par millimètre cube (21 o/o).

TABLEAU II

Valeur des différentes constantes hématologiques étudiées dans les différentes tranches d'anémie.

	Moyenne de la femme africaine dakaroise 4.300.000 G. R.	Anémies gravidiques pathologiques					Anémies gravidiques physiologiques							
		2,25 2,5	2,5 2,75	2,75 3	3 3,25	3,25 3,5	3,5 3,75	3,75 4	4 4,25	4,25 4,5	4,5 4,75	4,75 5	5 5,25	
Hémoglobine en g./100 ml. de sang	13,9	6,8	8		10,3	10,7	11,4	12,5	12,8	13,4	14,2	14,6	15,2	
T. G.	32	29	30,5		32,1	34	31,3	31,6	30,5	30,5	30,4	30,5	30	
C. G.	33	28	28		32	35	33	33	33	33	33	32	39	
V. G. T.	41,5	25	29		32,5	33,5	35	37	39	40	41	45	39	
V. G. M.	97	105	108		106	99	95	94	93	94	93	92	77	
D. M. (μ).	7,2	7,1	7,1		7,1	7,1	7,2	7,2	7,2	7,1	7,1	7,1	7	
S (μ^2).	134	138	140		140	135	127	127	126	132	132	131	131	
E (μ).	2,4	2,6	2,7		2,7	2,4	2,3	2,3	2,5	2,4	2,3	2,3	2	
I. S.	3	2,73	2,62		2,62	2,95	3,13	3,13	2,88	2,95	3,08	3,08	3,5	
G. B. (1.000).	7,1	8,8	7,5		6	7,2	6	5,4	7,4	7,5	4,6	6	4	
P. N.	46	51	58		61	61	69	59	56	60	61	59	53	
P. E.	10	9	4		6	6	5	5	7	4	2	8	5	
Plaquette (1.000)	170	264	245		147	190	155	167	179	160	220	129	168	
Prothrombine o/o	88	110	95		88	68	90	74	85	84	80	90	70	
V. S.	14	30	37		31	35	30	31	24	17	29	21	12	
D. S.	52	40	40,5		42	46	45	49	49	50,5	54	54	52	
D. P.	27	26	25		23	24	22	24	25	24	26	25	—	

TABLEAU III. — Schéma de classification morphologique des hématies d'après Cazal.

Surface	Indice de sphéricité			
	+	3,7 =	3,1	—
135 μ^2	Macrocytose à tendance platyctaïre. Platyctaïse à tendance macrocytaïre.	Macrocytose pure.		Macrocytose à tendance sphérocytaïre. Sphérocytose à tendance macrocytaïre.
120 μ^2	Platyctaïse pure.	Normocytose.		Sphérocytose pure.
	Platyctaïse à tendance microcytaïre. Microcytose à tendance platyctaïre.	Microcytose pure.		Sphérocytose à tendance microcytaïre. Microcytose à tendance sphérocytaïre.

Classification morphologique des hématies au cours de la grossesse chez la femme dakaroise (africaine).

	Volume globulaire moyen $\bar{V}$	Diamètre globulaire moyen $\bar{d}$	Epaisseur globulaire moyenne $\bar{e}$	Surface globulaire moyenne $\bar{S}$	Indice de sphéricité $\bar{I}$	
Européens Dakarois.	87,4	7	2,2	129,1	3,2	Normocytose
Africains Dakarois	96,7	7,2	2,4	134	3	Tendance sphérocytaire et macrocytaire
Anémies gravidiques physiologiques.	94,2	7,1	2,4	132,2	2,9	Sphérocytose
Anémies gravidiques.	101,7	7,1	2,7	136,4	2,6	Sphérocytose et macro- cytose

TABLEAU IV

Valeurs des différentes constantes hématologiques étudiées dans le cours des cinq derniers mois de la grossesse.

	Mois de grossesse					Moyenne de la femme africaine dakaroise non enceinte
	5 ^e	6 ^e	7 ^e	8 ^e	9 ^e	
Nombre de cas	6	13	26	42	13	
Taux d'hémoglobine en g./100 ml. de sang. . .	13	12,5	12	12	12,5	14
Nombre d'hématies mm ³	4.000.000	4.035.000	3.730.000	3.890.000	4.025.000	4.300.000
Teneur globulaire moyenne d'hémoglobine	32	31	31	32	31	32
Concentration globulaire moyenne en hémoglobine	32	32	33	33	33	33
Volume globulaire moyen	101	95	96	95	92	97
Diamètre globulaire moyen	7	7,2	7,2	7,1	7,3	7,2
Nombre de globules blancs mm ³	7.700	7.500	6.200	6.300	7.400	6.600
Nombre de polynucléaires (neutro + éosino). .	61,5	61,5	64,5	65,5	66	55
Nombre d'éosinophiles .	6,5	4,5	5,5	5,5	5	10
Nombre de plaquettes .	140.000	160.000	190.000	180.000	150.000	180.000
Vitesse de sédimentation	23	28	27	28	27	14
Densité plasmatique. .	23	23	24	24	23	27
Prothrombine o/o . . .	80	85	83	79	78	88
Volume globulaire total.	41	40	40	39	37	41,5

TABLEAU V

Incidence de la multiparité sur l'anémie.

	Nombre de cas	Nombre de femmes ayant moins de 3.500.000 G. R.	o/o	Nombre de femmes ayant plus de 3.500.000 G. R.	o/o
1 ^{re} grossesse . .	18	3	17	15	83
2 ^e grossesse . .	21	5	24	16	76
3 ^e grossesse . .	17	4	24	13	76
4 ^e grossesse . .	19	5	26	14	74
5 ^e grossesse . .	15	2	13	13	87
Au-dessus de la 5 ^e grossesse . .	10	2	20	8	80

— la fréquence et le type de l'anémie, les diverses constantes morphologiques et hémoglobiniques de l'hématie (sauf le V. G. M.) ne nous ont pas paru varier au cours des 5 mois de grossesse étudiés. Cependant aux 7^e et 8^e mois le nombre d'hématies (et aussi de leucocytes) par millimètre cube diminuent légèrement, probablement par augmentation du volume plasmatique. Au 9^e mois, c'est le volume globulaire total qui baisse, sans doute par diminution du volume globulaire moyen (microcytose gravidique) ;

— la leucocytose gravidique n'a pas été retrouvée ; par contre, une polynucléose relative, nette et croissant avec l'âge de la grossesse, a été mise en évidence. Elle s'accompagne d'une éosinopénie nette (baisse de 50 o/o) ;

— le nombre des plaquettes sanguines ne nous a pas paru modifié ;

— la vitesse de sédimentation est pratiquement doublée et ne se modifie pas quand la grossesse avance ;

— l'abaissement constant de la densité plasmatique suggère une

hémodilution qui ne varierait pas au cours des 5 mois de grossesse étudiés;

— le taux de prothrombine nous a paru constant et peut-être légèrement abaissé.

*Centre Fédéral de Transfusion de l'A. O. F.
Hôpital Principal de Dakar.*

BIBLIOGRAPHIE

1. BENHAMOU (E.), NOUCHY (A.). — Les plaquettes sanguines au cours de la menstruation, de la grossesse et des suites de couches. *Gynéc. et Obst.*, 1932, janvier-février, 25, 97-110.
2. BERNARD (J.). — Le Sang. Encyclopédie médico-chirurgicale. Flammarion, éditeurs, Paris.
3. BETHELL (F.). — The blood changes in normal pregnancy. *J. A. M. A.*, 1936, décembre, 107, 504-507.
4. BLAND (P. B.), FIRST (A.), GOLDSTEIN (L.). — The blood platelets in pregnancy and puerperum. *Am. Journal. Obst. Gynec.*, 1930, juillet-décembre, 20, 163-173.
5. CATON (W. L.), ROBY (C.), REID (D.), CASWEL (R.), MALETSKOS (C.), FLUHARTY (R.), GIBSON (J.). — The circulating red cell volume and body hematocrit by normal pregnancy and the puerperum, by direct measurement using radioactive red cells. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1951, 6, 1207-1217.
6. CAZAL (P.), CAZAL (R.). — Intérêt clinique de la détermination des constantes érythrocytaires : profil érythrocytaire, surface érythrocytaire, concentration hémoglobinique. *Sem. Hôp. Paris*, 1948, 30 mai, 24, 41, 1335-1338.
7. DE GOUVEA (L. R. L.), DE CASTRO LOBO (M.), MORAND (P.). — *Arch. Bras. de Méd.*, 1949, 39, 101.
8. DE MUYNCK (A.). — Het hemoglobinegehalte big de Zwangere vrouw in de skeck van Luebo (Kasai). *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1949, 29, 260.
9. FAUGERE (G.), MAILLET. — Le volume plasmatique et la masse sanguine au cours de l'état gravido-perpuel. *Gynéc. Obst.*, 1951, 50, 4, 394-403.
10. HAMILTON (H. G.), HISSIM (R. S.). — Correlated study of serum proteins, erythrocyte count, leukocyte count, hemoglobin and hematocrit in normal pregnancy. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1949, 58, 345.
11. LAMBILLON (J.). — Contribution à l'étude du problème obstétrical de l'autochtone du Congo Belge. *Ann. Soc. Belge Méd. trop.*, 1950, 30 novembre, 30, 5, 987-1125.
12. LINHARD (J.). — Quelques normes hématologiques chez des Africains de la région de Dakar. *Le Sang*, 1956, 27, 2, 142-160.
13. MAC LENNAN (C. E.), THOUIN (L. G.). — Blood volume during pregnancy critical review. *Am. Jour. Obst. Gynec.*, 1948, 55, 189.
14. MAC LENNAN (C. E.), COREY (D. L.). — Plasma volume late in pregnancy. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1950, 59, 3, 662-666.

15. MAHON (R.), CHARTRUSSE (L.). — Modifications de l'organisme maternel au cours de l'état de gravido-puerpéral. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*.
16. MAYER (M.), DREYFUS (C.). — Les anémies de la grossesse. *Sem. Hôp. Paris*, 1949, 22 décembre, 35, 94, 3926-3928.
17. NOTTER (A.). — Les modifications du sang chez la femme enceinte normale. *J. Méd. Lyon*, 1945, 5 janvier, 60, 21-24.
18. OBERMER (E.). — Sedimentation rate during pregnancy. *Journ. Obst. and Gynec. Brit. Empire*, 1948, 55, 464.
19. OLWIN (J. H.), ALLEN (H.). — Prothrombine in pregnancy and puerperum. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1948, 55, 4, 600-608.
20. VOUILLOUX (M. P.). — L'éosinophilie sanguine pendant la grossesse et le cycle menstruel. *Méd. Trop.*, 1955, mars-avril, 15, 2, 193-201.
21. WARD (C.), MAC ARTHUR (L.). — Blood platelets studies during pregnancy and puerperum. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1948, 55, 4, 600-608.
22. TYSOE (W.), LÆWENSTEIN (L.). — Blood volume and hematologic changes in pregnancy and puerperum. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1950, 60, 6, 1187-1205.

ERRATUM

Précisions sur l'adjuvant renforçateur de terrain le plus favorable dans les traitements courts et à faibles doses par un amino-4-quinoléine (chloroquine ou nivaquine) dans les affections à *Plasmodium berghei* chez la souris blanche. Note III, par J. SAUTET, E. DESANTI, J. VUILLET, G. ARNAUD et M. AUSSEIL. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1957, 50, p. 49.

Tableau I p. 50 et 51 et Tableau II p. 52 et 53, pour les cages nos 103, 108, 113, 118, 123, 128, lire : « non impaludées » au lieu de « impaludées ».

SOCIÉTÉ MÉDICALE DE L'A. O. F.

RÉUNION DU LUNDI 11 MARS 1957

- 1) MM. R. LETAC et H. BEZES : *Résultats d'une ostéotomie sous-trochantérienne bilatérale dans une double coxarthrose aux attitudes vicieuses très accusées* (Présentation de malade).

Jeune fille ouolof de 20 ans présentant d'effroyables séquelles d'une arthrite aiguë des deux hanches datant de l'enfance (membres inférieurs croisés en ciseaux, en X. Face postérieure d'une cuisse intimement appliquée contre face antérieure de l'autre). Quelques mètres de film montrent la très curieuse démarche initiale. Présentation de la malade 18 mois après une ostéotomie sous-trochantérienne bilatérale : des photographies comparatives et la démarche actuelle permettent d'apprécier les heureux résultats des deux ostéotomies.

- 2) MM. J. RAINAUT et M. LARIVIÈRE : *Etat de mal épileptique chez un sujet atteint de cysticercose sous-cutanée* (Présentation de malade).

Les auteurs rapportent un cas de cysticercose cérébrale chez un sujet de 30 ans.

La manifestation clinique majeure fut un état de mal épileptique. L'exérèse d'un cysticerque sous-cutané permet d'en établir le diagnostic. Une première cure de Notézine (400 mg. par jour pendant 20 jours) n'amène aucune régression des autres kystes présents sous la peau.

- 3) MM. M. PAYET, P. PÈNE, Mmes ROUGET-CAMPANA et GESLIN : *Sur un cas d'aleucie hémorragique*.

Les auteurs rapportent une observation d'aleucie hémorragique rapidement mortelle chez un Africain de 45 ans. La prise récente de 24 g. d'un sulfamide intestinal en 3 jours autorise à rattacher les accidents observés à cette étiologie.

- 4) MM. H. M. L. SONIER et R. CAMAIN : *Remarques sur un cas d'endométriiose au niveau d'une cicatrice abdominale*.

L'observation rapportée concerne une femme, mère de 5 enfants, chez laquelle on avait, à l'étranger, il y a 6 ans, pratiqué une hys-

térotomie dans le but d'évacuer un utérus gravide au cours de troubles psychiatriques graves. La tuméfaction endométriale observée était sous-cutanée mais adhérente aux muscles sous-jacents. Elle fut extirpée et l'exploration de l'abdomen et du petit bassin ne montra rien. L'absence de poussées fluxionnaires menstruelles au niveau de la tumeur n'avait pas permis le diagnostic clinique.

- 5) MM. P. BARROUX et R. LETAC : *Modifications récentes à la technique de l'iléo-cysto-urétroplastie* (Présentation de malade).

Avec projection d'un film muet d'une durée de 19 minutes. Commentaires.

PHOSPHORE ACTIF
 Aliment de la cellule nerveuse
N'EST PAS UN DOPING
 Puissance Intellectuelle
 Forme Physique

EUCYTOL

GROSSESSE
ALLAITEMENT
DÉCALCIFICATION
TROUBLES de la CROISSANCE

CALCIUM UTILE

Lab^o MAYOLY-SPINDLER, 16, av. des Ch. récupiés, RUEIL-MALMAISON (S.-et-O.)

Affections du foie et des voies biliaires
 Constipation
 Fermentations Intestinales

SULFOBOLDINE

2 à 3 comprimés
 matin et soir

Entérites aiguës et chroniques
 Anthelminthique
 Dysenterie amibiennne

CRÉSENTYL

Comprimés à 0 g. 50
 de Benzo-méta-crésol

Laboratoire des ANTIGENINES - 3, rue Cassini PARIS-XIV° - Tél. : DAN. 81-00

Le Gérant : G. MASSON

DÉPÔT LÉGAL : 1957. 2^e TRIMESTRE, N° D'ORDRE 2655. MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS, PARIS
 IMPRIMERIE BARNEOUD S. A. (31.0566), LAYAL, N° 3578 - 6-1957.